SMITH Y MARTIN

BACTERIOLOGIA

DE ZINSSER

U.T.E.H.A. ★ U.T.E.H.A.



U.T.E.H.A.

U.T.E.H.A. ★ U.T.E.H.A.

BACTERIOLOGIA DE ZINSSER

BACTERIOLOGIA DE ZINSSER

APLICACION DE LA BACTERIOLOGIA Y LA INMUNOLOGIA AL DIAGNOSTICO, TRATAMIENTO ESPECIFICO Y PREVENCION DE LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS

Revisada por los profesores de la Facultad de Medicina de la Duke University

DAVID T. SMITH, M. D.
Profesor de Bacteriología y de Medicina

DONALD S. MARTIN, M. D., M. P. H.
Profesor de Medicina Preventiva y Sanidad Pública y Profesor Auxiliar de Bacteriología

NORMAN F. CONANT, Ph. D.
Profesor de Micología y Profesor Auxiliar de Bacteriología

JOSEPH W. BEARD, M. D.
Profesor de Cirugía

GRANT TAYLOR, M. D.
Profesor auxiliar de Bacteriología y de Pediatría

HENRY I. KOHN, Ph. D., M. D.
Profesor Auxiliar de Fisiología y Farmacología

MARY A. POSTON, M. A.
Instructora en Bacteriología

Traducción al castellano de la novena edición en inglés por

ANTONIO CAPELLA BUSTOS
Doctor en Medicina



UNION TIPOGRAFICA EDITORIAL HISPANO-AMERICANA

BUENOS AIRES, CARACAS, GUATEMALA, HABANA, LIMA, MONTEVIDEO, RIO DE JANEIRO, SANTIAGO

MEXICO

Esta obra es la traducción al castellano de la publicada originalmente en inglés por Appleton-Century-Crofts, Inc., de New York, E. U. A., bajo el título de

ZINSSER'S TEXTBOOK OF BACTERIOLOGY

IMPRESO EN MEXICO
PRINTED IN MEXICO

Talleres gráficos "La Carpeta", S. A., calle de Bolivar, 151-157

PROLOGO

En el prólogo de la primera edición de este *Tratado de Bacteriología* (1910), los autores hicieron resaltar la importancia de adoptar un criterio básico que considerase no sólo los caracteres biológicos de los microorganismos, sino también las reacciones de los tejidos vivos a las bacterias y sus productos, con el fin de que la obra fuese útil lo mismo para el bacteriólogo que para el estudioso de la Sanidad pública y de la Medicina clínica. En el curso de más de un tercio de siglo, la obra se ha desarrollado en sus ocho ediciones, bajo la acertada guía de Hiss, Zinsser y Bayne-Jones, a tenor del desarrollo de la ciencia.

Los autores actuales estudiaron este texto cuando eran alumnos de la universidad, y durante muchos años lo han usado para la enseñanza. Han mantenido el criterio biológico antes expuesto y valorizado la importancia clínica de ciertos caracteres biológicos de los microorganismos.

El plan de la obra y la distribución en capítulos son, en general, los mismos que en la octava edición. Se ha dado mayor extensión al artículo de las sulfonamidas y se ha añadido un artículo de antibióticos. También es nuevo el capítulo sobre los microorganismos del tipo pleuroneumonía.

En los capítulos que tratan de infecciones específicas se ha añadido un párrafo de introducción que subraya los aspectos de Sanidad pública de la enfermedad. Cada capítulo ha sido revisado a fondo, tomando en cuenta los resultados de las extensas investigaciones realizadas durante la segunda Guerra Mundial. Los artículos de metabolismo bacteriano, inmunología, micosis y enfermedades por virus se han redactado de nuevo. Se han añadido ciento ochenta y dos ilustraciones, muchas de las cuales son microfotografías electrónicas que ilustran detalles morfológicos submicroscópicos de bacterias y virus.

Damos las gracias a los colegas, estudiantes y críticos por su consejo y su generosa ayuda en la preparación de esta revisión.

Estamos especialmente agradecidos a Elon H. Clark, Miss Evelyn Satterfield, Henry F. Pickett y Carl M. Bishop por la preparación de las nuevas ilustraciones. Expresamos nuestro reconocimiento por la valiosa ayuda de nuestra secretaria, Mrs. Christine L. Kier, que ha mecanografiado repetidas veces el manuscrito, a la doctora Hilda P. Pope, quien leyó el manuscrito y nos ofreció muy valiosas sugestiones, y a Mrs. Nancy Scott, por la comprobación de las referencias bibliográficas.

David T. Smith
Donald S. Martin

PROLOGO A LA PRIMERA EDICION

Este volumen es ante todo un tratado sobre las leyes fundamentales y la técnica de la Bacteriología, aplicadas al estudio de las bacterias patógenas.

Tienen las bacterias tan extensa difusión y son tan variadas sus actividades, que la Bacteriología, una de las ciencias más jóvenes, se ha dividido ya en campos de especialización —médico, sanitario, agrícola e industrial— que apenas tienen otra cosa en común que los problemas de Fisiología bacteriana y ciertos procederes de técnica fundamentales.

Tal amplitud de concepción sólo se puede abarcar en el estudio de las bacterias en su relación con los procesos morbosos del hombre y de los animales, el cual nos permite conocer, no sólo los métodos de multiplicación y los productos de las bacterias fuera del cuerpo animal, y los métodos comunes al estudio de los microorganismos patógenos y no patógenos, sino también las complejas reacciones entre las bacterias y sus productos, por una parte, y entre las bacterias y las células y tumores del organismo animal, por otra, reacciones que se manifiestan como síntomas y lesiones en el cuerpo enfermo o como fenómenos visibles en el tubo de ensayo.

El estudio e interpretación de los procesos que son la base de estas reacciones ha ampliado nuestros conocimientos de Fisiología celular, y ha descubierto hechos de incalculable valor para el esclarecimiento de algunos problemas de infección e inmunidad, que han conducido a nuevos métodos de tratamiento y diagnóstico. Así, la Bacteriología médica, rama sumamente especializada de la Biología y Patología generales, ha recompensado a las ciencias madres y a la Medicina en general con métodos y conocimientos de amplísima aplicación.

Por esto, hemos procurado presentar nuestro estudio del modo más amplio y crítico posible en los capítulos que tratan de la infección y de la inmunidad, y con métodos de diagnóstico biológico y tratamiento de la enfermedad, para que el estudiante y el médico práctico, familiarizándose con las leyes y principios básicos, no sólo comprendan la significación y el alcance de algunos de estos nuevos descubrimientos y métodos, sino también se hallen en condiciones de decidir por sí mismos su adecuada aplicación.

Para explicar mejor los procesos de fisiología y nutrición de las bacterias y para ofrecer nuevos puntos de vista en los problemas de relación de las bacterias con nuestro ambiente y nuestros alimentos, hemos utilizado ejemplos de la Agricultura y de la Bacteriología sanitaria, y en la última parte de la obra se exponen métodos especiales de Bacteriología relacionados con la higiene de los alimentos y del medio que nos rodea.

En conclusión, podemos decir que el alcance y el plan de esta obra son resultado de muchos años de experiencia en la enseñanza universitaria de la Bacteriología para estudiantes de Medicina y en cursos de ampliación para médicos, y esperamos que el texto será útil no sólo al estudiante, sino también al médico práctico.

Nos es grato expresar nuestro reconocimiento a los que nos han cedido ilustraciones para nuestro texto y al Dr. Gardner Hopkins y al profesor Francis Carter Wood por las microfotografías que han tomado expresamente para esta obra.

P. H. Hiss, Jr.
H. Zinsser

INDICE

PARTE I

BIOLOGIA DE LAS BACTERIAS. METODOS GENERALES EN BACTERIOLOGIA

CAPITULO I

BOSQUEJO HISTORICO Y ALCANCE DE LA BACTERIOLOGIA

CAPITULO II

MORFOLOGIA GENERAL Y REPRODUCCION DE LAS BACTERIAS

CAPITULO III

NUTRICION DE LAS BACTERIAS

CAPITULO IV

METABOLISMO DE LAS BACTERIAS

CAPITULO V

DESARROLLO DE LAS BACTERIAS

CAPITULO VI

ACCION DE LOS AGENTES FISICOS SOBRE LAS BACTERIAS

CAPITULO VII

AGENTES QUIMICOS, SULFONAMIDAS, ANTIBIOTICOS

CAPITULO VIII

ECOLOGIA BACTERIANA Y FLORA DEL ORGANISMO NORMAL

CAPITULO IX

VARIABILIDAD DE LAS BACTERIAS

CAPITULO X

CLASIFICACION DE LAS BACTERIAS

PARTE II

INFECCION E INMUNIDAD

CAPITULO XI

PODER PATOGENO Y VIRULENCIA

CAPITULO XII

FACTORES DEFENSIVOS DEL ORGANISMO ANIMAL

CAPITULO XIII

ANTIGENOS Y ANTICUERPOS

CAPITULO XIV

TOXINAS Y ANTITOXINAS

CAPITULO XV

ANTICUERPOS SENSIBILIZANTES

CAPITULO XVI

HIPERSENSIBILIDAD

PARTE III

MICROORGANISMOS PATOGENOS

CAPITULO XVII

INTRODUCCION AL ESTUDIO DE LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS

CAPITULO XVIII

MICROCOCOS (ESTAFILOCOCOS)

CAPITULO XIX

ESTREPTOCOCOS

CAPITULO XX

ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR ESTREPTOCOCOS

CAPITULO XXI

EL NEUMOCOCO Y LA NEUMONIA

CAPITULO XXII

INFECCIONES CAUSADAS POR HEMOPHILUS INFLUENZAE Y OTROS ORGANISMOS DEL GRUPO HEMOFILO

CAPITULO XXIII

HEMOPHILUS PERTUSSIS Y TOS FERINA. HEMOPHILUS DUCREYI Y CHANCRO BLANDO

CAPITULO XXIV

EL GRUPO NEISSERIA Y LA MENINGITIS CEREBROESPINAL EPIDEMICA

CAPITULO XXV

NEISSERIA GONORRHOEAE E INFECCIONES GONOCOCICAS

CAPITULO XXVI

CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE Y DIFTERIA

CAPITULO XXVII

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS Y TUBERCULOSIS

CAPITULO XXVIII

MYCOBACTERIUM LEPRAE Y LEPRA

CAPITULO XXIX

MALLEOMYCES MALLEI Y MUERMO. MALLEOMYCES PSEUDOMALLEI Y MELIOIDOSIS (ENFERMEDAD DE WHITMORE)

CAPITULO XXX

KLEBSIELLA PNEUMONIAE Y ORGANISMOS AFINES

CAPITULO XXXI

EL GRUPO COLI AEROGENES PROTEUS

CAPITULO XXXII

SALMONELAS Y SALMONELOSIS

CAPITULO XXXIII

SALMONELLA TYPHOSA Y FIEBRE TIFOIDEA

CAPITULO XXXIV

SHIGELLA Y SHIGELOSIS

CAPITULO XXXV

VIBRIO COMMA Y COLERA ASIATICO

CAPITULO XXXVI

PSEUDOMONAS AERUGINOSA Y PIOCIANOSIS

CAPITULO XXXVII

BRUCELLA MELITENSIS, BR. ABORTUS, BR. SUIS Y BRUCELOSIS

CAPITULO XXXVIII

PASTEURELLA TULARENSIS Y TULAREMIA

CAPITULO XXXIX

PASTEURELLA PESTIS Y PESTE

PARTE IV

ESPIROQUETAS

CAPITULO XLV

ESPIROQUETAS

CAPITULO XLVI

TREPONEMA PALLIDUM Y SIFILIS

CAPITULO XLVII

LAS ESPIROQUETAS DE LA FIEBRE RECURRENTE, ANGINA DE VINCENT Y OTRAS ENFERMEDADES

CAPITULO XLVIII

ICTERICIA INFECCIOSA POR LEPTOSPIRA (ENFERMEDAD DE WEIL) Y OTRAS LEPTOSPIROSIS

CAPITULO XLIX

SPIRILLUM MINUS Y FIEBRE POR MORDEDURA DE RATA

PARTE V

ORGANISMOS DEL GRUPO DE LA PLEURONEUMONIA

CAPITULO L

ORGANISMOS DE LA PLEURONEUMONIA

PARTE VI

RICKETTSIAS Y RICKETTSIOSIS

CAPITULO LI

RICKETTSIAS

CAPITULO LII

RICKETTSIOSIS DEL HOMBRE. CUADRO CLINICO, TRANSMISION, TRATAMIENTO Y PROFILAXIS

PARTE VII

ENFERMEDADES CAUSADAS POR VIRUS FILTRABLES

CAPITULO LIII

CARACTERES MORFOLOGICOS, FISICOS, QUIMICOS Y BIOLOGICOS DE LOS VIRUS

CAPITULO LIV

VIROSIS DEL HOMBRE CARACTERIZADAS POR LESIONES CUTANEAS

CAPITULO LV

VIROSIS DEL HOMBRE CARACTERIZADAS POR SINTOMAS RESPIRATORIOS

CAPITULO LVI

ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR VIRUS CARACTERIZADAS POR ICTERICIA

CAPITULO LVII

PAROTIDITIS EPIDEMICA

CAPITULO LVIII

VIROSIS DEL HOMBRE CARACTERIZADAS POR DIARREA

CAPITULO LIX

EL GRUPO DE VIRUS PSITACOSIS-LINFOGRANULOMA

CAPITULO LX

VIROSIS DEL HOMBRE CARACTERIZADAS POR CONJUNTIVITIS

CAPITULO LXI

VIROSIS DEL HOMBRE CARACTERIZADAS POR SINTOMAS NEUROLOGICOS

CAPITULO LXII

VIROSIS DE ANIMALES Y PLANTAS

CAPITULO LXIII

BACTERIOFAGOS

PARTE VIII

MICOLOGIA MEDICA

CAPITULO LXIV

INTRODUCCION A LA MICOLOGIA MEDICA

CAPITULO LXV

ACTINOMICETOS Y ACTINOMICOSIS

CAPITULO LXVI

ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR HONGOS QUE AFECTAN A LOS ORGANOS INTERNOS

CAPITULO LXVII

ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR HONGOS QUE SE LOCALIZAN EN LA PIEL Y TEJIDO SUBCUTANEO

CAPITULO LXVIII

LAS DERMATOMICOSIS

CAPITULO LXIX

MICOSIS DIVERSAS

PARTE IX

TECNICA DE BACTERIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y SEROLOGIA

CAPITULO LXX

ESTUDIO MICROSCOPICO Y TINCION DE LAS BACTERIAS

CAPITULO LXXI

PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO

CAPITULO LXXII

METODOS USADOS EN EL CULTIVO DE BACTERIAS

CAPITULO LXXIII

METODOS PARA DETERMINAR LAS ACTIVIDADES BIOLOGICAS DE LAS BACTERIAS. EXPERIMENTACION EN EL ANIMAL

CAPITULO LXXIV

FILTRACION Y OTRAS TECNICAS

CAPITULO LXXV

TECNICAS DE SEROLOGIA E INMUNOLOGIA

CAPITULO LXXVI

RECOLECCION Y EXAMEN DE MATERIAL OBTENIDO DE PACIENTES Y DE CADAVERES

CAPITULO LXXVII

ENSAYOS IN VITRO DE SULFONAMIDAS Y ANTIBIOTICOS

BACTERIOLOGIA DE ZINSSER

PARTE PRIMERA

BIOLOGIA DE LAS BACTERIAS. METODOS GENERALES EN BACTERIOLOGIA

CAPITULO PRIMERO

BOSQUEJO HISTORICO Y ALCANCE DE LA BACTERIOLOGIA

La historia de muchos conceptos generales ahora incluídos en las doctrinas bacteriológicas explica los intentos efectuados para resolver los problemas del origen de la vida y las alteraciones transmisibles en seres vivos, hombres y animales, y en la materia muerta. Los aspectos visibles de estos fenómenos fueron tan aparentes y tan interesantes para los antiguos observadores como lo son para los biólogos modernos. Sus causas ocultas fueron motivo de especulación e indagación filosóficas. La historia primitiva de lo que ha llegado a ser la ciencia de la Microbiología ha de cimentarse, por tanto, en los escritos de sacerdotes, filósofos y científicos que se esforzaron por explicar los mecanismos invisibles de la generación animal, de la fermentación y putrefacción y de las enfermedades transmisibles.

En el pasado como en el presente, las causas últimas de estos fenómenos se colorearon por los dogmas teológicos y filosóficos de la época y por el conocimiento verdadero de que se disponía. A través de los siglos, ciertas "teorías teúrgicas" de los procesos vitales y de las pestilencias han influído profundamente en el pensamiento y la conducta de la gente. Estas ideas, surgidas de creencias religiosas y de supersticiones, han tenido y tienen importancia práctica para los individuos y la sociedad en sus esfuerzos para dominar las enfermedades infecciosas. Su influencia en el desarrollo de la Bacteriología ha sido perjudicial en tanto que han impedido la experimentación, y beneficiosa al provocar la comprobación científica de la validez de los dogmas teológicos. Otros conceptos basados en conocimiento disponible en el momento, se conservaron a través de los tiempos por la fuerza del razonamiento y la perspicacia que suponían. Entre estas especulaciones interesantes, a las que dió significación el descubrimiento posterior de los microorganismos, hállanse las primeras doctrinas de la génesis de la vida en la vida misma, de los elementos vivos en fermentaciones y putrefacciones y en el contagio.

En este bosquejo histórico revisaremos solamente las teorías e investigaciones que parecen haber ejercido gran influencia en el desarrollo de la bacteriología médica. Durante muchos años la fuente principal de información a este respecto fueron las disertaciones de Löffler sobre historia de la Bacteriología. Desde entonces la literatura ha sido ampliada por la publicación de muchos artículos y libros sobre historia de la Ciencia y en especial de la Biología y la Medicina. Afortunadamente para los estudiantes de Bacteriología, Bulloch publicó en 1930 los resultados de sus doctas investigaciones. Actualmente ésta es la narración más digna de crédito y de mayor valor en la historia de la Bacteriología desde sus comienzos hasta fi-

nales del siglo diez y nueve. Tenemos una gran deuda con la obra *History of Bacteriology*, de Bulloch, que nos ha servido de información y ha dirigido nuestros estudios hacia muchas de las más importantes fuentes.

Para comprender el desarrollo de la Bacteriología es necesario conocer algo acerca de las teorías de la fermentación y putrefacción, origen de los animales y naturaleza del contagio, por cuanto existían antes de descubrirse las bacterias y otros organismos.

La fermentación del pan y la transformación del jugo de uva en vino siempre han provocado admiración. El proverbio bíblico: "modicum fermentum totam massan corrumpit" (I, *Corintios*, 5 : 6) indica reconocimiento de un elemento transmisible en las alteraciones que más tarde se llamaron fermentaciones. Antes del descubrimiento de las bacterias, parece haber existido la suposición imprecisa de que los fermentos eran organismos vivos. La explicación más parecida a una interpretación química del proceso fué la expresada por Thomas Willis en 1659; Bulloch [1] la resume así: "El concepto de la fermentación como conmoción interna de las partículas de la substancia fermentable." Este concepto influyó en los químicos y bacteriólogos durante doscientos años. Aproximadamente por la misma época, Robert Boyle afirmó con toda claridad que la penetración en la náturaleza íntima de las enfermedades habría de lograrse por el estudio de la fermentación. En 1663, en un ensayo "que ofrece algunas particularidades referentes a la parte patológica de lo físico", escribió: "...y permitirme añadir que el que comprenda a fondo la naturaleza de los fermentos y de las fermentaciones, estará probablemente mucho mejor capacitado que el que la ignore, para dar una explicación razonable de los diversos *fenómenos* de varias enfermedades (tal como fiebres y otras), los cuales quizá nunca serán comprendidos por completo sin penetrar en la doctrina de la fermentación". [2] Esta profecía se cumplió en Pasteur.

La referencia de San Pablo a la levadura era en el sentido de una corrupción transmisible. Además, hay muchas antiguas indicaciones, figuradas o explícitas, relativas a la transmisibilidad de la podredumbre. La materia transferida de un cuerpo descompuesto a otros cuerpos, vivos o muertos, se supuso comúnmente ser alguna suerte de efluvio venenoso. Se notó que las epidemias acompañaban a las guerras y se concibió cierta relación entre los vapores emanados de los cuerpos putrefactos y la diseminación de la enfermedad. Estas nociones cristalizaron en una doctrina de miasmas. Las afecciones miasmáticas se reconocieron como enfermedades contagiosas, transmitidas principalmente por el aire y contraídas por inhalación. Se supuso que los miasmas vivían no solamente de materiales putrefactos, sino también de alteraciones de la atmósfera y de emanaciones misteriosas de la tierra. La doctrina de los miasmas ha persistido por siglos. Muestra todavía su vitalidad en palabras médicas tales como *influenza* y *malaria* y continúa jugando un costoso papel en los sistemas modernos de cañerías e instalaciones sanitarias. Las investigaciones acerca de las causas reales de la putrefacción y de la naturaleza de las enfermedades miasmáticas llegó a tener inmensa importancia en el desarrollo de la Bacteriología.

Junto a las teorías de las causas divinas de la enfermedad hubo, desde tiempos antiguos, conjeturas perspicaces de que los agentes de las enfermedades contagiosas eran seres vivos. Como es sabido, Varro y Columella, en el siglo I a. de C., expre-

[1] W. Bulloch, *History of Bacteriology*, in A System of Bacteriology in Relation to Medicine, Medical Research Council, Londres, 1930, p. 23.

[2] Robert Boyle, *The Usefulness of Experimental Philosophy*, Oxford, 1663, Parte II, Ensayo II, p. 44. Este título está catalogado como el Nº 50 en *A Bibliography of the Honourable Robert Boyle*, Oxford, 1932, p. 43, por J. F. Fulton. Estamos reconocidos al Dr. Fulton por haber localizado esta cita, así como por su transcripción.

saron la opinión de que la enfermedad era causada por seres vivos invisibles, *animalia minuta*, introducidos en el cuerpo con los alimentos o con el aire respirado. Sin prueba alguna de la existencia de estos organismos, tales ideas tuvieron poca o ninguna influencia. En el reinado de Justiniano parece que se reconoció la naturaleza contagiosa de la peste bubónica. Las epidemias devastadoras de la Edad Media demostraron repetidamente que la enfermedad era contagiosa, ya que con frecuencia se vió que un caso nuevo de la enfermedad pestilente surgía de contacto más o menos estrecho con otro caso previo. El establecimiento de cuarentena por las ciudades de Marsella y Venecia en el siglo catorce derivaba de esta creencia. Probablemente la diseminación de la epidemia de sífilis en Europa a finales del siglo quince y comienzos del dieciséis "tuvo la mayor influencia", como señala Ford,[3] "enseñando al mundo que la enfermedad puede pasar de individuo a individuo". "Aquí el mecanismo de transmisión fué casi evidente por sí mismo." Con toda seguridad, el conocimiento de la historia natural de la sífilis influyó en Fracastorius, quien, con la mayor claridad, enunció la teoría de que el agente de las enfermedades transmisibles era un ser vivo, en *contagium vivum*. En su libro de enfermedades contagiosas, publicado en 1546, Fracastorius describió la transmisión de la enfermedad por contacto directo, por intermedio de objetos y por el aire *ad distans*. Llamó a los agentes de la enfermedad *seminaria morbi*, gérmenes vivos, y expresó la opinión de que las semillas de estos agentes, procedentes de un animal infectado, producían la misma enfermedad en otro que las recibía. Estos principios, que en esencia eran ciertos, no lograron convencer, por no estar basados en la demostración física de los hipotéticos organismos invisibles. Incluso después del descubrimiento de las bacterias, la confirmación de las teorías de Fracastorius tardó largo tiempo en lograrse.

Desde la antigüedad, la generación de los animales ha sido objeto de especulación y controversia. Se supuso que los animales y plantas, cuyos precursores no podían verse, eran producidos por la combinación espontánea de elementos y principios etéreos. Respaldado por la autoridad de Aristóteles, este concepto de la generación espontánea, o abiogénesis, dominó durante toda la Edad Media. El misterio de Sanson relativo a la producción de abejas y miel del cadáver de un león (*Jueces*, 14:8, 14) se repitió en 1652 por los ensayos de Van Helmont para generar ratones a partir de trapos sucios y granos en fermentación. Lo que pareció particularmente asombroso a Van Helmont fué que los ratones nacidos de harapos y granos fueran sexualmente maduros y capaces de copular con ratones descendientes de padres naturales. Nociones caprichosas del mismo tipo acerca de la generación de los insectos fueron sometidas a prueba experimental por Francisco Redi, a mediados del siglo diecisiete. Redi probó de manera concluyente que los gusanos que aparecían en la carne descompuesta se desarrollaban de los huevos de mosca y demostró con experimentos que si la carne se cubría con gasa, de modo que las moscas no pudieran depositar sus huevos, aunque se pudriera no nacían de ella gusanos visibles o insectos. La conclusión de Redi de que la vida viene de la vida, sustentada por experimentos que cualquiera podía repetir, debería haber decidido el problema. De hecho, Redi parece haber seguido creyendo en la generación espontánea de algunos insectos. Por este tiempo William Harvey remozó la noción aristotélica de forma y principio, manifestando su creencia en que algo *incorpóreo* fecundaba el huevo. El error persistió, a pesar de los experimentos de Redi. Después que las bacterias fueron descubiertas, la doctrina de la generación espontánea siguió manteniéndose

[3] W. W. Ford, *Text-book of Bacteriology*, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1927, p. 24.

por la gran novedad y el origen obscuro de estas criaturas diminutas. Gran parte de los fundamentos de la Bacteriología hállase en el trabajo experimental hecho para probar que las bacterias no se generaban espontáneamente.

Una pieza era esencial para el descubrimiento de las bacterias: una lente de aumento de poder suficiente. Las esféricas simples o biconvexas habían sido usadas por largo tiempo, y existía un número considerable de observaciones microscópicas de ácaros, insectos, líquenes y otros objetos antes de la mitad del siglo diecisiete. Singer ha demostrado cómo por el año 1661 la importancia del microscopio fué haciéndose cada vez mayor. Como el descubridor de las bacterias y de muchos otros microorganismos preparaba él mismo sus lentes y, al parecer, no conocía nada acerca de los trabajos microscópicos de sus predecesores y contemporáneos, es erróneo creer que la historia de la invención y desarrollo del microscopio compuesto fué preludio de la Bacteriología. Según Singer y Disney, el microscopio compuesto fué inventado por dos hombres, con independencia el uno del otro, casi al mismo tiempo. El microscopio compuesto parece haber resultado de una combinación fortuita de lentes colocadas en un tubo por Zacarías Jansen, en Holanda, en la primera década del siglo diecisiete, y la invención de Galileo, quien creó un instrumento según los principios de los ópticos, en Italia, en 1609. El microscopio ha sido repetidamente mejorado, y cada progreso ha abierto nuevas perspectivas y ha hecho posibles nuevos descubrimientos en Bacteriología.

De esta breve revisión de las viejas teorías y observaciones, resulta evidente que antes de 1676 la doctrina de la generación espontánea se había hecho dudosa, si no insostenible; que se había previsto cierta relación entre fermentación, putrefacción y enfermedad; que se había supuesto la existencia de un agente vivo causa de enfermedad transmisible por contacto, objetos y a través del aire, y que el microscopio había sido perfeccionado hasta poder poner de manifiesto, por lo menos, algunos de los minúsculos agentes causantes de enfermedad. Cabría suponer que sólo faltaba el descubrimiento de los microorganismos para avanzar en la solución de una multitud de problemas. Como se verá, el curso del progreso no fué tan lógico. Durante más de cien años, el descubrimiento de las bacterias tuvo poca influencia en la solución de los problemas planteados por las enfermedades infecciosas. El descubrimiento no fué apreciado, pasó inadvertido o sirvió para revivir supersticiones. El progreso tuvo lugar no por estudio directo de las bacterias o por aplicación de conocimientos previos a nuevas investigaciones acerca de la enfermedad, sino siguiendo un camino tortuoso de controversias que hoy sabemos carecen de importancia.

Fué necesario a los primeros observadores provistos de microscopios inventar una terminología para las pequeñas criaturas extrañas que veían. Las llamaron *animalitos, gusanitos* o *pequeños insectos;* claro está que estos términos se aplicaron también a restos microscópicos de tejidos y otros objetos inanimados. Interpretando estas vagas descripciones en lenguaje moderno, se ha pretendido que cierto número de hombres vieron bacterias antes que Leeuwenhoeck. El honor de la prioridad lo solicita Singer [4] en favor de dos hombres: Pierre Borel (1620-1671) y Athanasius Kircher (1602-1680). Nosotros no hemos examinado el libro de Borel *Historiarum et Observationum Medicophysicarum*, publicado en 1653, del cual Singer cita un párrafo que describe "animales en forma de ballenas o delfines que nadan en la sangre humana como en un océano rojo". Quizá Borel vió corpúsculos sanguíneos, pequeños coágulos, anguílulas del vinagre, fragmentos de tejidos y pequeñas larvas

[4] C. Singer, *J. Roy. Microscop. Soc.*, 1915, pp. 335-338, 338-340.

de insectos, pero no estamos convencidos de que "probablemente sorprendió una visión fugaz de infusorios y posiblemente bacterias". Una aseveración indirecta de que Kircher vió las bacterias alrededor del año 1650, la hizo Löffler en la introducción de su obra *Vorlesungen*, donde asegura que Kircher anunció el descubrimiento de un nuevo mundo de seres vivos. Sin embargo, Löffler admite que el microscopio de Kircher sólo lograba aumentos lineales de 32 y que Kircher no pudo ver la causa bacteriana de la peste. Singer conviene en que los *pequeños gusanos* descritos por Kircher eran probablemente corpúsculos sanguíneos y filas de glóbulos rojos, pero repite la antigua suposición de que *quizá vió infusorios*. Hemos examinado los párrafos referidos, y otros, en el libro de Kircher sobre peste y no hemos encontrado ninguna descripción de bacterias en tales escritos del docto jesuíta. Ambos, Borel y Kircher, claramente sugerían que las formas microscópicas que vieron en la sangre, en el pus y en la carne podrida eran los agentes vivos de la peste. De hecho Kircher apoya las teorías de Fracastorius con observaciones microscópicas. Si bien las reclamaciones de prioridad del descubrimiento de las bacterias para Borel y Kircher se pueden desmentir, parece cierto que ambos, y particularmente el último, tuvieron cierto conocimiento de la naturaleza viva de los agentes de contagio e influyeron favorablemente en el desarrollo de la doctrina del *contagio vivo*.



FIG. 1. "MICROSCOPIO" DE LEEUWENHOEK.

Lámina XXI, de *Antony van Leeuwenhoek and His "Little Animals"*, por C. Dobell, 1932. Reproducción con permiso de los editores, Harcourt, Brace and Co., de Nueva York.

Las bacterias fueron descubiertas por Antonio van Leeuwenhoek (1632-1723) en el año 1676. Esta afirmación parece fuera de duda, según las referencias históricas recogidas en la gran biografía de Van Leeuwenhoek publicada por Dobell en 1932. Además de las traducciones de todas las partes importantes de las cartas de Leeuwenhoek, en las que se describen las bacterias y los protozoarios, este libro contiene la demostración absolutamente convincente de que Leeuwenhoek fué de hecho "el padre de la Protozoología y la Bacteriología".

Para detalles de la vida de Leeuwenhoek, de cómo preparó sus lentes de aumento y observó miles de cosas minúsculas, referimos al lector a la biografía de Dobell. Nosotros presentaremos solamente un resumen muy breve de las observaciones hechas sobre las bacterias por este hombre extraordinario e infatigable. El *microscopio* con el cual vió las bacterias era una simple lente biconvexa, de longitud focal corta, sujeta entre dos placas metálicas. La preparación a examinar en una gota de líquido o en un tubo fino de vidrio se fijaba a una punta metálica y se movía dentro del foco por medio de tornillos. La figura 1 presenta un modelo del instrumento, copiado de un dibujo hecho por Dobell. Es probable que las mejores lentes de Leeuwenhoek dieran un aumento de 300 diámetros. Nunca descubrió los secretos de sus métodos y no se sabe con certeza cómo obtenía la iluminación necesaria de sus pre-

paraciones. Dobell sugiere que Leeuwenhoek probablemente encontró algún medio sencillo de iluminación en fondo obscuro. Las primeras descripciones de bacterias están en su carta a la Royal Society de Londres, fechada el 9 de octubre de 1676 (Nº 18 de Dobell). Da algunas descripciones reconocibles de bacterias en diversas aguas y en *agua de pimienta*, en la cual buscaba con sus vidrios de aumento la causa del *calor* correspondiente. En su carta a la Royal Society, fechada el 17 de septiembre de 1683 (Nº 39 de Dobell), se describen claramente diversas formas de bacterias. En ella describe los animalúnculos que encontró en las heces del hombre y animales y en el sarro de sus dientes. A esta carta acompañaba un dibujo de las bacterias. El original se ha perdido, pero se ha conservado la lámina que ilustra la traducción latina de esta carta publicada en 1695. En la figura 2 reproducimos una fotografía de este famoso dibujo que demuestra, sin lugar a duda, que Leeuwenhoek vió las principales formas de bacterias, cocos, bastones, filamentos y espiroquetas. Cuando Dobell denominó a Leeuwenhoek el primero y más grande de los microbiólogos, le atribuyó el primer lugar entre todos, porque en 1675 descubrió las bacterias de diversas aguas, en 1680 descubrió bacterias anaerobias en infusiones de pimienta, en 1680 descubrió la levadura en la cerveza y en 1681 las bacterias y espiroquetas de la boca y el intestino.

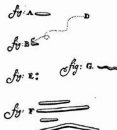


FIG. 2. BACTERIAS DE LA BOCA HUMANA, SEGUN LEEUWENHOEK.

De *Arcana Naturae*, 1695. Las identificaciones de Dobell son como sigue: *A*. Un bacilo móvil: *B. Selenomonas sputigena; E.* Micrococos; *F. Leptothrix buccalis; G.* Probablemente *Spirochaeta buccalis.*

Después del descubrimiento de las bacterias por Leeuwenhoek, se señalaron a la investigación dos direcciones principales: el estudio de la naturaleza y clasificación de estos organismos y el estudio de la relación de las bacterias con fermentación, putrefacción y enfermedad.

En 1678 Hooke confirmó el descubrimiento de Leeuwenhoek y durante la primera parte del siglo dieciocho los *pequeños animalitos* fueron vistos y descritos por cierto número de autores. Las dificultades de asignarles un lugar y darles un nombre se ponen de manifiesto por la creación de Linneo en 1758 de un género de *Vermes* que denominó "Chaos". Algunos años después, Wrisberg llamó a estos organismos *Infusorios*. Sin duda, esto ayudó a Linneo a darles un nombre en la edición undécima de su *Systema Naturae*, en 1767; según Bulloch, formó una clase llamada *Chaos infusorium*. Que todavía estaba confundido en cuanto a la naturaleza de las bacterias y protozoarios lo indica un hecho: los describió como "el nimbo etéreo flotando en el mes de la floración". En algunos aspectos la clasificación de las bacterias aun sigue caótica.

La primera clasificación importante de los infusorios fué hecha por O. F. Müller, en 1773 y 1786. Los términos *Vibrio* y *Monas* fueron introducidos por Müller. Unos cincuenta años más tarde. Ehrenberg, sin conocer realmente la naturaleza de las bacterias, empezó a publicar clasificaciones de ellas. En 1829 estableció el género *Bacterium*, de la palabra griega *Báction*, diminutivo de *Bácteron*, que significa bastón. El conjunto de la Bacteriología debe su nombre corriente al predominio de las formas en bastón. En su enorme libro sobre infusorios, publicado en 1838, Ehrenberg estableció con mayor firmeza los términos genéricos *Bacterium* y *Vibrio* e introdujo otros que se usan hoy, principalmente *Spirillum* y *Spirochaeta*.

Consideró las bacterias como animales completos, clasificándolas con los protozoarios poligástricos. La transferencia de las bacterias al reino vegetal fué propuesta primero por Fernando Cohn, en 1854. Las publicaciones de Cohn después de 1872 marcaron gran avance en el estudio sistemático de las bacterias. Sus estudios clásicos tuvieron enorme influencia. La suya personal, como maestro y director de investigadores, fué igualmente grande. Bajo la dirección de Cohn, el punto de vista botánico dominó en Bacteriología. En 1857, Nägeli observó la relación de bacterias y hongos, e introdujo el término *Schizomycetes*, que se ha conservado para la designación científica de estos organismos.

Es cierto que las analogías con los hongos sugeridas por este término llevaron más lejos de lo que los hechos autorizaban. Hacia la mitad del siglo diecinueve se encontró que un mismo hongo podía aparecer en diversas formas vegetativas y en varios tipos de reproducción. El conocimiento comprobado de los ciclos de vida de los hongos se extendió, por suposición, a las bacterias en las cuales no se había demostrado otra relación con formas reproductoras que la formación de esporas. Por este tiempo, nadie sabía con certeza si un cultivo de bacterias constaba de un solo tipo de organismos. No había cultivos puros, excepto los obtenidos accidentalmente, y éstos estaban expuestos a contaminación no previsible. Hallier. Nägeli y Billroth describieron los ciclos de vida más completos y variables. Las denominadas "cocco-bacteria séptica" de Billroth se pueden considerar como una especie tipo de estos hipotéticos organismos polimorfos. Se necesitaba un remedio para detener la confusión creciente. Pasteur creyó en la constancia de las formas, y Koch, después de introducir los medios sólidos para cultivo de las bacterias, reforzó el concepto de un estricto monomorfismo. No obstante, las nociones biológicas ortodoxas, según las cuales las bacterias eran tan variables como otros organismos, y quizá tenían un ciclo de vida, nunca desaparecieron por completo. Las influencias correctoras iban demasiado lejos. Muchas variantes verdaderas de las bacterias se descartaban como contaminaciones. Dentro del último cuarto de siglo ha revivido el interés por las variaciones de las bacterias, el estudio de las variantes y la investigación de los posibles ciclos vitales. Nos referimos extensamente a estos aspectos de la Bacteriología en los capítulos sobre clasificación y variación bacterianas.

Leeuwenhoek no apreció la significación de su descubrimiento, como ningún otro autor, por largo tiempo. Dobell ha dicho que las nociones y el conocimiento estaban allí, pero resultaban prematuros. En el siglo dieciocho, sin embargo, hubo varias manifestaciones definidas de la teoría microbiana de la enfermedad, basada, en parte, en lo que se conocía de los *pequeños animales* de Leeuwenhoek. Una de las primeras fué el libro de Benjamín Marten sobre la tisis, publicado en 1720. Marten se refiere a los descubrimientos de Leeuwenhoek y enuncia definitivamente que "la causa original y esencial de la tisis pueden ser, posiblemente, algunas determinadas especies de animalúnculos o seres vivos maravillosamente pequeños", [5] los cuales, alojándose y creciendo en los pulmones, producen los trastornos de la tisis. No creyó en la generación espontánea y tuvo cierta noción de la especificidad de los microbios, como se deduce de lo que escribió: "los huevos o semillas de los animalúnculos que causan la tisis (son) diferentes de los causantes de la viruela". La publicación es de un tono claramente moderno, pero no se basaba en hechos demostrados, y Marten mismo no aplicó su teoría. La indicación más clara de la teoría microbiana de la enfermedad en el siglo dieciocho fué la de Plenciz en 1762. Este autor se refirió a los descubrimientos de los animalúnculos de Leeuwenhoek.

[5] B. Marten, *A New Theory of Consumptions*, Londres, 1720, pp. 50, 51, 55, 79 y 83.

discutió la transmisión de la enfermedad según los métodos de Fracastorius, por contacto, por objetos inanimados y a través del aire, expresó su creencia en la doctrina del *contagio vivo* y explicó su concepto de la especificidad de agentes vivos en las enfermedades infecciosas. En estas ideas estaba la verdad, pero no iban acompañadas de prueba experimental alguna.

Así, pues, el concepto de *contagio vivo* quedó establecido en el trabajo de Plenciz y muchos otros que siguieron sus huellas, pero la poquísima impresión que estos hombres dejaron en el pensamiento médico de su época ilustra la futilidad de la especulación más penetrante cuando no se basa en datos experimentales.

Pasaron casi ciento cincuenta años desde que Leeuwenhoek descubrió las bacterias y protozoarios antes que se hicieran aplicaciones precisas del nuevo conocimiento. En una notable serie de investigaciones efectuadas durante el primer cuarto del siglo diecinueve, Agostino Bassi demostró de manera casi concluyente que un hongo, llamado más tarde en su honor *Botrytis bassiana*, causaba una enfermedad de los gusanos de seda llamada *mal segno* en Italia y *muscardine* en Francia. El biógrafo de Bassi, Calandruccio, llamó a Bassi el fundador de la teoría del parasitismo. Según Bulloch, "Bassi puede ser justamente proclamado como el verdadero fundador de la doctrina de los microorganismos patógenos de origen vegetal; un hombre de gran originalidad y el precursor de Schwann, Pasteur, Koch y Lister".

El trabajo de Bassi fué confirmado y ampliado. En 1839 Schoenlein encontró el hongo que causa las lesiones del favus; en 1846 Eichstedt descubrió un hongo en el raspado de piel de pacientes con pitiríasis versicolor y observó la contagiosidad de la enfermedad, ya que sus pacientes compartían la misma cama. En 1837 Donné encontró bacterias y espiroquetas en secreciones de las vías genitales de hombres y mujeres y describió una espiroqueta, probablemente *Spirochaeta refringens*, en el exudado de lesiones sifilíticas. Rayer y Davaine, en 1850, vieron organismos en forma de bastón en la sangre de animales muertos de carbunco. Rayer repitió los experimentos hechos por Barthélemy en 1825, demostrativos de que el carbunco era inoculable en serie a las ovejas. Por el año 1863, Davaine había comprobado experimentalmente que la enfermedad se podía transmitir por la sangre y el sedimento de sangre lacada que contenían estos bastones, y no podía contagiarse por la sangre de la cual estuvieran ausentes. Este trabajo fué importante por la influencia que tuvo sobre el desarrollo de la doctrina bacteriana de la infección, en contraste con la idea prevaleciente de que los hongos eran los principales agentes de contagio. Entre 1868 y 1873, Obermeier, en el Hospital Charité, de Berlín, bajo la vigilancia de Virchow, estuvo confirmando cuidadosamente su descubrimiento de la relación de un espirilo con la fiebre recurrente. Demostró por primera vez la presencia de un microorganismo patógeno en la sangre del hombre.

Se debe recordar que durante estos primeros años de ensayos biológicos los investigadores sólo por casualidad disponían para su trabajo de cultivos puros y no sabían cuándo ocurrían las contaminaciones en los materiales que usaban. Hubo mucha especulación, conceptos vagos y una cantidad considerable de trabajo equívoco que dificultó el desarrollo de una doctrina esencialmente cierta. Jacobo Henle, en 1840, modificó las cosas al exponer un punto de vista lógico y crítico. En su discusión teórica de enfermedades miasmáticas y contagiosas, Henle, el futuro maestro de Roberto Koch, afirmó su creencia en la naturaleza vital y en la acción específica de los agentes de contagio. Refiriéndose particularmente a las investigaciones de Jenner, Bassi, Audouin, Schoenlein y Ricord, anticipó los postulados de Koch, insistiendo en que la prueba de que un organismo causa una enfermedad se debe obtener por la demostración de la presencia constante del microorganismo en las

lesiones, el aislamiento de este microorganismo y la reproducción de la enfermedad al inocularlo. Con un punto de vista muy semejante, Villemin comprobó, experimentando en conejos, en 1865, que el tubérculo era inoculable. Villemin interpretó sus experimentos como demostración de que la tuberculosis era producida por un virus. Pensó que éste debía estar presente en los productos patológicos y que cuando se inocularan a un animal susceptible debían poder reproducirse por sí mismos y al mismo tiempo originar la enfermedad.

Mientras estos y otros experimentos llevados a cabo entre 1807 y 1868 parecen indicar que la Bacteriología estaba avanzando por el camino que debía culminar en las escuelas de Cohn y Koch, el camino, en realidad, no era tan recto. Un progreso importante se hizo siguiendo otras líneas, por los estudios de fermentación, generación espontánea y, una vez más, la enfermedad de los gusanos de seda. El gran paso, como vamos a ver, lo dió Pasteur.

En 1837, un botánico, Schwann, demostró que las levaduras encontradas en las substancias en fermentación eran seres vivos, y que eran precisamente ellos los causantes de la fermentación. Casi al mismo tiempo, un físico francés, Cagniard-Latour, hizo observaciones similares. Las opiniones de estos hombres sobre la naturaleza de la fermentación despertaron mucho interés, ya que por entonces, y durante largo tiempo después, la fermentación se atribuyó universalmente a la descomposición proteínica, proceso enteramente obscuro, pero considerado de naturaleza química pura. Estas observaciones, sin embargo, señalaron que la solución del problema estaba próxima.

Si bien el descubrimiento de Schwann no fué plenamente admitido, aun después que Pasteur hubo completado sus estudios clásicos sobre las fermentaciones que ocurrían en la cerveza y el vino, el concepto de "fermento vivo" dió origen a muchas discusiones y atrajo la atención de los físicos y hombres de ciencia hacia las muchas analogías existentes entre los fenómenos de la fermentación y los de la enfermedad. El cumplimiento de la profecía hecha años antes por Roberto Boyle había empezado.

Fué también durante este período que una de las cuestiones más fundamentales, a saber, la del origen de estos seres vivos diminutos, se discutía con mucha pasión por el mundo científico. La mayoría conservadora sostenía que los microorganismos descritos por Leeuwenhoek, y otros, eran producidos por generación espontánea. La doctrina de la generación espontánea, aunque debilitada por Redi, estaba aún establecida sólidamente y santificada por la tradición. No debe olvidarse que sin la ayuda de nuestros métodos modernos de estudio no se hubieran logrado fácilmente pruebas satisfactorias en pro o en contra de tal proceso.

Needham, quien publicó su trabajo en 1749, había gastado mucho tiempo en afirmar su opinión en favor de la generación espontánea por vía experimental. Colocó material putrefacto e infusiones vegetales en frascos tapados, exponiéndolos al calor durante corto tiempo, por inmersión en un vaso de agua hirviendo; después comprobaba que contenían abundantes microorganismos. Fué apoyado en su opinión nada menos que por Buffon. El trabajo de Needham, sin embargo, presentaba cierto número de inexactitudes experimentales, que fueron totalmente suprimidas por el abate Spallanzani. Este investigador repitió los experimentos de Needham, pero tuvo mayor cuidado en cerrar los frascos y los sujetó a una exposición más homogénea al calor. Sus resultados no sostenían las opiniones de Needham, pero fueron contestados por éste en el sentido de que el calentamiento excesivo había producido en sus soluciones alteraciones químicas que hacían imposible la generación espontánea.

Schulze, en 1836, no logró encontrar organismos vivos en las infusiones que habían sido hervidas y a las cuales se había hecho llegar aire pasado a través de soluciones ácidas fuertes; resultados similares obtuvo Schwann, quien había hecho pasar el aire a través de tubos mantenidos a temperaturas altas. Estos resultados fueron objetados por sus oponentes, quienes sostenían que la alteración química del aire sujeta a tales influencias drásticas era la responsable de la ausencia de bacterias en la infusión. Los experimentos similares de Schröder y Dusch, quienes habían tapado sus frascos con algodón, no podían impugnarse con esta objeción, pero tampoco lograron convencer. La cuestión no fué establecida definitivamente hasta los años que siguieron inmediatamente a 1860, cuando Pasteur llevó a cabo una serie de experimentos que no solamente fueron importantes para refutar de manera incontrovertible la doctrina de la generación espontánea de las bacterias, sino que establecieron los principios de investigación científica que tanto han influído en la investigación bacteriológica desde entonces.

Pasteur atacó el problema desde dos puntos de vista. En primer lugar, demostró que cuando el aire se filtraba por el algodón se depositaban sobre el filtro innumerables microorganismos. Una sola hebra de tal filtro contaminado, dejada caer dentro de un frasco de líquido nutritivo previamente esterilizado, bastaba para producir un rápido desarrollo de microorganismos de todo género. En segundo lugar, logró demostrar que líquidos similares, *putrescibles*, esterilizados, si se dejan en contacto con el aire permanecerán sin contaminar, siempre que no se permita la entrada de partículas de polvo. Esto lo logró ideando frascos cuyos cuellos se estiraban hasta formar tubos finos incurvados en forma de U. Los extremos de estos tubos en U se dejaban abiertos, permitiendo la sedimentación del polvo del aire hasta la parte más baja del tubo, pero si no había corriente de aire, el polvo no pasaba por el segundo brazo hasta el líquido. Con tales frascos, demostró que la contaminación no tenía lugar, pero se producía inmediatamente si se inclinaba todo el aparato hasta que el líquido pudiera correr por dentro del brazo curvo del tubo en U. Finalmente, exponiendo una serie de frascos que contenían infusión de levadura estéril a diferentes niveles atmosféricos, en lugares en que el aire estaba sujeto a grados variables de contaminación por el polvo, demostró una relación inversa entre la pureza del aire y la contaminación de sus frascos por microorganismos.

La doctrina de la generación espontánea de las bacterias había recibido su refutación final, excepto en un punto particular. Todavía no estaba claro por qué no siempre se obtenía la esterilización completa por la aplicación de determinado calor. Este eslabón final en la cadena de datos demostrativos fué suministrado, unos diez años más tarde, por Cohn, quien, en 1871, fué el primero en observar e interpretar correctamente las esporas bacterianas y demostrar su resistencia para el calor y otras influencias deletéreas.

Mientras tanto, Pasteur, investigando la generación espontánea, había estado experimentando con la fermentación siguiendo las líneas sugeridas por Cagniard-Latour. Como consecuencia de estos experimentos no solamente confirmó las opiniones de este autor y de Schwann concernientes a la fermentación de la cerveza y el vino por levaduras, sino que logró demostrar que cierto número de otras fermentaciones, como la de los ácidos láctico y butírico y la descomposición de la materia orgánica por putrefacción, se debía directamente a la acción de microorganismos.

La prueba de que la putrefacción era causada por agentes vivos enlazaba las viejas teorías con los conocimientos nuevos y ejerció gran influencia en la investigación médica a mediados del siglo diecinueve. Ejemplo de ello es el trabajo de Lister, bacteriólogo por derecho propio y gran cirujano. Los procesos supurativos que

ocurrían en las heridas habían sido considerados durante mucho tiempo como una especie de putrefacción. La futilidad de las viejas ideas y los fructíferos descubrimientos de Pasteur están claramente resumidos por Lister en la introducción de su obra *On the Antiseptic Principle in the Practice of Surgery*. Después de citar los intentos infructuosos para impedir la supuración por los métodos ideados para excluir el aire de las heridas, Lister escribió: "pero cuando Pasteur demostró que la propiedad séptica de la atmósfera dependía, no del oxígeno ni de los gases constituyentes, sino de organismos diminutos suspendidos en ella, se me ocurrió que la descomposición de la parte dañada debía evitarse sin excluir el aire, por la aplicación como apósito de algún material capaz de destruir la vida de las partículas flotantes." [6] Entonces refería sus éxitos extraordinarios al prevenir la supuración con ácido fénico. De este modo, la Bacteriología dió origen a los principios antisépticos, más tarde reemplazados por los métodos asépticos que han hecho posible la Cirugía moderna.

La controversia sobre la generación espontánea estaba en su apogeo en Inglaterra después de 1850, casi tan intensamente como en Francia. En ambos países el principal oponente de la doctrina fué un hombre inteligente, gran experimentador, de discernimiento agudo y método riguroso. Este fué John Tyndall, quien, partiendo de los experimentos para suprimir las pequeñas partículas del aire, hizo muchos descubrimientos importantes en Bacteriología. Descubrió la gran resistencia de las esporas al calor, ideó un método de esterilización fraccionada y confirmó muchos de los hallazgos de Pasteur. Por medio de conferencias y demostraciones y por un notable libro publicado en 1882, Tyndall, como dice Bulloch, "dió el soplo final para apagar la doctrina de la generación espontánea", y abrió la ruta para el progreso de la teoría bacteriana de la enfermedad.

En 1865 y 1866 hubo un devastadora epidemia de cólera en Europa. El desastre obligó a hacer una revisión de lo que se conocía y estimuló los intentos para adquirir conocimientos por la aplicación de las ideas y métodos nuevos. El paso más destacado, siguiendo la nueva teoría microbiana de la enfermedad, anunciado con adorno de largos escritos y dibujos, resultó erróneo. Se trata del trabajo de Hallier, profesor de Botánica en Jena, quien pensó que había descubierto la causa del cólera en un hongo polimorfo. Hallier cultivó *Mucor*, *Penicillium*, y otros organismos cuya presencia ignoraba, bajo una campana de vidrio. La cubierta de cristal preservaba de los organismos del aire, pero los materiales puestos en el aparato no habían sido esterilizados antes de sembrarlos con heces de colérico. Como consecuencia, Hallier pudo ver, en la yuxtaposición de cocos y bacterias con los micelios y esporos de hongo, lo que interpretó como indicador de la transformación de una forma en otra. El trabajo de Hallier gozó de un breve período de influencia. También Lister publicó cuadros mostrando la metamorfosis de los hongos en bacterias. Hubo, sin embargo, críticas de los cultivos mezclados. La mejor de ellas fué de Bary, quien señaló claramente que los cultivos de Hallier no tenían valor, puesto que era muy probable que las formas bacterianas que se creían derivadas de hongos fuesen descendientes de gérmenes presentes en el substrato original. Bary arguyó que la causa del cólera no se podía establecer por este medio.

El conflicto de opiniones creó, naturalmente, gran confusión. El pensamiento reinante en 1867 queda bien ilustrado por el título y contenido de una larga revisión publicada ese año en la revista *Jahresbericht* de Virchow-Hirsch. Este artículo se titula "Acute Infektionskrankheiten". Entre las enfermedades infecciosas agudas

[6] J. Lister, "On the Antiseptic Principle in the Practice of Surgery", *Brit. M. J.*, 1867, 2:246.

registradas en él, se hallan las mordeduras de serpiente, fiebre del heno, cólera, influenza, meningitis y otras de origen bacteriano. Esto constituía un uso etimológicamente correcto de la palabra, pero demostraba que el término no había perdido todavía su significado general más antiguo de "impregnar o infeccionar con materia patógena" y no se le había dado su acepción moderna para enfermedades causadas por agentes parásitos vivos.

Se iba aproximando el tiempo en que la Bacteriología iba a entrar en su gran período de contribución al conocimiento de las causas de las enfermedades transmisibles. En Francia, Pasteur y sus colaboradores habían completado sus estudios sobre generación espontánea, fermentación, putrefacción, enfermedades de los gusanos de seda y alteraciones de la cerveza. Mucho se había aprendido acerca de las bacterias en general y fueron importantes las aplicaciones médicas e industriales de la Bacteriología. Se habían ideado métodos de esterilización de los medios y aparatos, se usaban dispositivos para limitar la contaminación por los organismos del aire y se iba estableciendo el concepto de especificidad bacteriana. Pero la técnica de estudio de las bacterias no había avanzado lo suficiente para producir resultados concluyentes. Pasteur, en las proximidades de sus 60 años, estuvo a punto de emprender los estudios que debían llegar a ser los fundamentos de la Inmunología. Las investigaciones sobre etiología continuaron en Francia, pero los grandes éxitos en la investigación de las bacterias causantes de enfermedad fueron pronto logrados en Alemania, por la Escuela de Fernando Cohn y Roberto Koch. Esta nueva evolución se inició en el año 1876.

En 1876, Roberto Koch, discípulo de Jacobo Henle, fué a Breslau a invitación de Cohn para demostrar los resultados de sus estudios sobre el carbunco. En el laboratorio de Cohn, Koch presentó sus métodos de cultivo, demostró el ciclo de vida del bacilo del carbunco desde la espora hasta otra nueva esporulación y probó, sin lugar a duda, la capacidad de los cultivos de este organismo para producir la enfermedad. El trabajo clásico de Koch sobre etiología del carbunco, publicado en 1876, fué el primero de una gran serie de contribuciones suyas y de sus discípulos. Ello inauguró una nueva era de investigación en Bacteriología.

Koch comprendió la importancia del método y de la técnica y no tardó mucho en introducir muchos de los procedimientos que son ahora prácticas diarias indispensables en los laboratorios de Bacteriología. De Weigert, Ehrlich y Salomonsen aprendió los métodos de tinción de las bacterias con colorantes de anilina. En su trabajo sobre el carbunco, su principal medio de cultivo fué el humor acuoso estéril de ojos de animales. Había visto las ventajas de los viejos medios sólidos opacos hechos de patata, remolacha, almidón, pan, clara de huevo y carne, pero se dió cuenta de que podían ser causa de error y no daban toda la información deseada acerca de las colonias bacterianas. Con objeto de separar unas especies bacterianas de otras, Koch ideó en 1881 un medio sólido transparente, mezclando gelatina con solución de peptona de Löffler. Durante trece años, desde 1870 hasta 1883, y especialmente durante los siete años que siguieron al 1876, los descubrimientos fundamentales fueron parejos con el avance de la técnica y el mejoramiento de los aparatos.

La enumeración de los descubrimientos logrados desde 1876 a 1890, período que Bulloch ha llamado "de apogeo en descubrimientos de Bacteriología" [7] harían el relato más largo de lo que corresponde. Mencionaremos solamente unos pocos ejemplos de las realizaciones de esos años. En 1876, Koch estableció la etiología

[7] W. Bulloch, *J. Path. & Bacteriol.*, 1925, 28:684.

del carbunco; en 1880, descubrió las causas de diversas infecciones de las heridas; en 1881, el vibrión del cólera; en 1882, descubrió el bacilo tuberculoso, y en la publicación referente a ese descubrimiento anunció sus famosos postulados. En el mismo año Löffler y Schütz aislaron el bacilo del muermo. En 1884, Gaffky aisló el bacilo tífico y Löffler aisló y estudió el bacilo diftérico. Weichselbaum descubrió el meningococo en 1887; en 1889, Kitasato cultivó el bacilo del tétanos. En Inglaterra, Francia, Malta, Estados Unidos, y otros lugares, los descubrimientos etiológicos fueron siguiéndose rápidamente durante este período. En los capítulos sobre enfermedades específicas presentaremos una relación más detallada y con la inclusión de los descubrimientos referentes a virus patógenos llenaremos el relato hasta nuestros días.

El período de gran avance técnico, 1871 a 1884, vió la introducción gradual de los métodos de filtración de líquidos que contienen bacterias. Quería demostrarse la toxicidad de los filtrados libres de células microbianas. Cuando se comprobó que los filtros de papel, tazas de arcilla porosa y fibras de asbesto compactos no retenían las bacterias, se comprendió la necesidad de preparar filtros más apretados. Chamberland ideó en 1884 un filtro adecuado, a base de una taza de porcelana sin esmaltar. El filtro de tipo Berkefeld hecho con tierra de infusorios fué introducido por Nordtmeyer en 1891. Los filtros de Chamberland-Pasteur permitieron descubrir las toxinas bacterianas. Al parecer, no se sospechaba en ese tiempo que estos filtros serían más tarde tamices capaces de separar las formas vivas visibles de las invisibles y de permitir una suerte de división entre los conceptos biológicos.

Se encontró inesperadamente que los agentes de algunas de las enfermedades transmisibles pasaban a través de estos filtros, en formas invisibles. En 1892, Iwanowski demostró que el agente ultramicroscópico del mosaico del tabaco estaba presente en el jugo filtrado de las hojas enfermas. En 1899, Beijerinck confirmó este descubrimiento y consideró el agente invisible del mosaico que se perpetuaba por sí mismo como *contagium fluidum vivum*. Algunos años más tarde, Löffler y Frosch demostraron que la glosopeda también era causada por un virus filtrable. Desde entonces, muchas enfermedades de animales y plantas se han ido añadiendo a esta lista, al comprobarse el carácter filtrable de sus agentes etiológicos.

Por medio de los filtros, Twort en 1915, e independientemente d'Herelle en 1917, descubrieron una substancia notable que tenía la propiedad de causar la lisis transmisible de las bacterias. Esta substancia, llamada *bacteriófago* por d'Herelle, tiene muchas propiedades análogas a las de los virus ultramicroscópicos. Se ha investigado extensamente y está proporcionando datos importantes para el moderno desarrollo de la Bacteriología.

Las investigaciones desde 1900 han probado que los virus son partículas corpóreas con diámetros que varían entre 10 y 300 mμ. Pero no se han determinado si son organismos vivos en el sentido usual de la palabra. La cristalización por Stanley de la proteína del virus que causa el mosaico del tabaco, en 1935, ha revivido la concepción de Beijerinck. El debate sobre la naturaleza de los virus plantea de nuevo una definición de la vida misma. Como señala Gratia en el libro sobre ultravirus publicado por Levaditi y Lépine, la doctrina de la generación espontánea está reapareciendo con disfraz de proceso de autocatálisis.

La Inmunología, como la Bacteriología, de la cual nació, tiene una vieja historia; incluye un período preliminar de ensayos y, después de muchos años, un avance rápido por la experimentación científica en animales.

Es sabido que los pueblos primitivos desde los más remotos tiempos han tratado de obtener resistencia al envenenamiento por la mordedura de serpientes recurriendo

al tratamiento con ponzoña. Mitrídates VI, rey del Ponto, en el año 63 a. de C. practicaba una especie de inmunización por vía bucal cuando intentaba aumentar su tolerancia para muchos venenos ingiriéndolos en pequeñas dosis repetidas. La variolización, o inoculación contra la viruela con material de la misma, era una vieja práctica en Oriente; Lady Montagu la introdujo en Inglaterra por el año 1721. La variolización fué aplicada en gran escala considerable en Estados Unidos durante el período colonial. Los resultados de algunos de estos esfuerzos para lograr protección contra las infecciones a veces fueron tan desastrosos como la enfermedad de la cual se estaba tratando de escapar; tales intentos no estaban basados en concepciones científicas.

Le corresponde a Eduardo Jenner el mérito de que una práctica popular se convirtiera en un principio científico de profilaxis. Por el año 1778, Jenner empezó a estudiar la inmunidad a la viruela que parecía existir en los ordeñadores que se habían contagiado de las vacas. Publicó sus observaciones y experimentos en 1798, estableciendo un método de protección contra la viruela y un principio general aplicable de la inmunización activa por el uso de virus atenuado.

Pasaron casi cien años entre el período de las investigaciones de Jenner y la fundación efectiva de la Inmunología. En 1877, Pasteur empezó a interesarse en el restablecimiento de los animales que sufrían alguna infección. Por este tiempo, comprobó que las aves inoculadas con cultivos viejos de bacterias del cólera de las gallinas se recuperaban después de sufrir una enfermedad leve y quedaban refractarias a la infección con cultivo virulento. Pasteur inmediatamente captó la esencia del fenómeno y llamó a estos cultivos viejos "virus atenuado". Reconociendo la relación de su descubrimiento con la inmunidad para la viruela consecutiva a la vacunación jenneriana, aplicó el término general de *vacuna* a los diversos organismos atenuados, que desde entonces utilizó con el fin de lograr inmunidad para cierto número de enfermedades bacterianas.

Después de sus estudios sobre el cólera de las gallinas, Pasteur emprendió la investigación del carbunco. Como profilaxis contra el carbunco usó una vacuna preparada con cultivos de *Bacilus anthracis* atenuados por el crecimiento a 42° ó 43° C. Con la dramática demostración del poder de su vacuna para proteger a las ovejas contra el carbunco, efectuada en Pouilly-le-Fort en 1881, Pasteur logró un extraordinario triunfo.

Sin embargo, los virus atenuados, pero vivos, no carecían de peligro. Un nuevo avance, menos arriesgado, pero posiblemente menos efectivo, fué logrado en Estados Unidos, entre 1884 y 1886, por Teobaldo Smith y D. E. Salmon, quienes demostraron que podía producirse inmunidad inyectando cultivos muertos por el calor de bacilo del cólera de los cerdos. En este hecho se ha basado el gran desarrollo de la profilaxis y terapéutica vacunal para el hombre y los animales.

Una vez logrado éxito en la inmunización contra enfermedades bacterianas, Pasteur se interesó por la rabia. Después de un breve paréntesis, durante el cual descubrió incidentalmente el neumococo, reconoció que la rabia era causada por un virus ultramicroscópico. Descubrió que este virus podía atenuarse por pases en conejos y por desecación de las medulas espinales de los animales infectados experimentalmente. Los resultados se lograron rápidamente, y por el año de 1886 varios miles de personas mordidas por perros y lobos habían recibido el tratamiento de Pasteur. En conmemoración de este triunfo se erigió en París, en 1888, el Instituto Pasteur.

Durante estos años, Pasteur había notado las diferencias en la resistencia de diferentes especies de animales para la infección, había visto que el descenso de la temperatura del cuerpo disminuía la resistencia de un animal a la infección y con-

cibió la inmunidad como un proceso de agotamiento, el cual, por depleción de ciertos materiales esenciales, hacía del cuerpo un medio desfavorable para el crecimiento de microorganismos. Sin embargo, poco era lo obtenido para explicar la inmunidad.

Se establecieron dos tipos de doctrina inmunológica. Según una, la protección se atribuía por entero a la acción de la sangre y líquidos de los tejidos. En la otra, se consideraba a ciertas células del organismo como agentes de defensa contra la infección. En la actualidad resulta evidente que hay mucho de cierto en ambos puntos de vista; como la sangre y los líquidos tisulares son producto de las células, las diferencias establecidas eran algo artificiales. La controversia, sin embargo, se agudizó y durante años fué fértil, contribuyendo a enriquecer los conocimientos ingeniosos experimentos planeados por los defensores de una u otra opinión.

La teoría humoral de la inmunidad y gran parte de la subsiguiente sueroterapia se fundaron en la demostración convincente, por Nuttall, en 1888, de la acción bactericida de la sangre. Dos años después, Behring demostró que los animales se podían proteger contra la difteria por inyecciones de toxina diftérica, y Behring y Kitasato lograron la inmunización contra el tétanos por inyecciones de toxina. En ambos casos el suero de los animales inmunizados contenía substancias que neutralizaban la toxina de manera específica, y se podía conferir la protección a los animales normales inyectándolos con suero antitóxico. La aplicación de estos métodos de inmunización pasiva a los seres humanos fué seguida de éxito inmediato. A continuación se prepararon y ensayaron gran variedad de sueros antitóxicos y antibacterianos. El estudio de las reacciones de estos sueros con los antígenos correspondientes ha proporcionado resultados de gran valor científico. Estas reacciones serológicas han sido muy útiles para el diagnóstico, para la identificación de bacterias y para la investigación inmunoquímica. La aplicación clínica ha proporcionado muy buenos resultados en algunos casos, desalentadores en otros. La investigación sobre sueroterapia está entrando en un nuevo período del cual cabe esperar el logro de productos más eficaces.

El desarrollo de la Inmunología como estudio de los mecanismos defensivos, constituyendo una disciplina particular, queda ilustrado por las discusiones entre Bordet y Ehrlich, en los últimos años del siglo pasado. En el curso de esta controversia se pasó de estudiar cómo un animal se protege a sí mismo contra la infección a investigar el mecanismo de las reacciones serológicas específicas, las reacciones entre antígenos y anticuerpos. Se descubrieron muchas reacciones nuevas; durante el curso de este debate se encontraron y estudiaron las aglutininas, citolisinas, complementos y amboceptores, y sus interacciones con los antígenos homólogos. Bordet suministró la mayor parte de las observaciones nuevas y originales. Ehrlich y sus colaboradores hicieron descubrimientos muy útiles. Bordet llegó a la conclusión de que las reacciones serológicas se explicaban de la mejor manera en términos de fisicoquímica. Ehrlich fué llevado por sus análisis a adoptar una explicación química tanto de los procesos inmunizantes como del mecanismo de reacciones entre antígenos y productos de inmunización. Este punto de vista, establecido por Ehrlich en 1897 con su famosa teoría de las cadenas laterales o receptores, dominó en Inmunología durante veinticinco años. En ellos se intentó descubrir el significado del hallazgo de bacterias más o menos degeneradas dentro de los leucocitos, en exudados y en cortes de las lesiones. La escuela de inmunólogos celulares dedicó todo su interés a las observaciones de este tipo. Por el año 1881, un zoólogo, Metchnikoff, observó que el destino de la pulga de agua, *Daphnia*, en su lucha con un hongo invasor, dependía de si ciertas células móviles existentes en el cuerpo transparente del pequeño animal eran capaces de engullir y digerir el microorganismo. Descubrió células con una función similar en los exudados inflamatorios de los animales superiores

y les dió el nombre de fagocitos. Estas opiniones entraron en agudo conflicto con las teorías humorales. Había llegado a establecerse como explicación de un mecanismo defensivo general de los animales superiores contra la invasión por muchas clases de gérmenes.

Durante este período se abrió un tercer camino importante para la Inmunología por las observaciones sobre estados de hipersensibilidad específica o, como se les ha llamado, de anafilaxis y alergia. La publicación de Flexner en 1894 de que "los animales que habían resistido una dosis de suero de perro sucumbían a una segunda dosis después de un lapso de algunos días o semanas, aun cuando la dosis fuera subletal para un animal testigo" [8] describió un ejemplo neto de anafilaxis. Muchos años antes, en 1837, un fisiólogo, Magendie, había descrito la muerte repentina de perros que habían sido inyectados repetidamente con albúmina de huevo. A partir de 1902, Richet y Portier llevaron a cabo estudios sistemáticos a propósito de la anafilaxis. La publicación de Arthus en 1903 y el "fenómeno de Theobald Smith" comunicados a Ehrlich en 1904 llamaron la atención de los investigadores sobre el curioso estado de hipersensibilidad que seguía a la inyección de proteínas. El estudio de las manifestaciones de hipersensibilidad en el hombre empezaron realmente con la observación de Jenner sobre la reacción vacunal acelerada que observó en la piel de personas vacunadas con anterioridad. La observación de Koch sobre la reacción a la tuberculina aumentó el interés sobre hipersensibilidad en el hombre, pero el desarrollo efectivo de este campo de la investigación tuvo lugar después de 1905, cuando von Pirquet y Schick publicaron sus observaciones sobre enfermedad del suero. Desde ese tiempo ha habido un acúmulo enorme de conocimientos nuevos acerca de numerosos casos de hipersensibilidad, sus manifestaciones variables y las relaciones de la alergia y la anafilaxis con la inmunidad y otros aspectos de la infección.

La historia de la Inmunología ha sido brevemente resumida aquí, porque esta ciencia arranca de la Bacteriología y está aún íntimamente conectada con ella. Sin embargo, cada vez resulta más evidente que la Inmunología y la Serología tienen posiciones independientes. Están asociadas inseparablemente con la Bacteriología y son importantes subdivisiones en los campos de la Bioquímica y la Fisiología. El trabajó de Landsteiner sobre la base química de la especificidad de las reacciones de inmunidad ha señalado claramente una dirección de este destino independiente.

Con el descubrimiento de las sulfonamidas y antibióticos se han abierto nuevas perspectivas para el bacteriólogo. El estudio de sus mecanismos de acción ha contribuído mucho a nuestros conocimientos básicos de fisiología de la célula bacteriana. En muchos casos se ha simplificado el tratamiento, se han modificado los síndromes clínicos y las características epidemiológicas se han cambiado por completo.

La publicación de Domagk en 1935 acerca del efecto espectacular del prontosil sobre las infecciones estreptocócicas, fué confirmada en seguida por Levaditi y Vaisman, en Francia, y por Colebrook y Kenny, en Inglaterra. En 1936 Tréfouël, Tréfouël Nitti y Dovett, en Francia, y Buttle, Gray y Stephenson, en Inglaterra, descubrieron independientemente que el prontosil se convertía en el organismo en sulfanilamida, el agente químico activo.

Waksman revisó, en 1941, la historia larga y tortuosa de los antibióticos. Pasteur observó que el carbunco, en animales susceptibles, se podía reprimir por inoculación simultánea de *B. anthracis* con otras bacterias.

[8] S. Flexner, *Med. News*, 1894, 65:116.

Cantani en 1885, Emmerich en 1887, Bouchard en 1889, Morgan y Harvey en 1909 y Blum en 1925 hicieron otras comunicaciones interesantes. La penicilina, descubierta por Fleming en 1925, se usó para la aplicación local a las heridas en 1932; más tarde fué abandonada. La investigación sistemática de Dubos en busca de antibióticos eficaces logró el descubrimiento de la gramicidina en 1939.

Finalmente, como resultado del estímulo de la segunda Guerra Mundial, Chain, Florey y sus colaboradores revivieron la penicilina de Fleming y demostraron su valor clínico. Como resultado de millones de pruebas con miles de organismos disponemos ahora de la estreptomicina de Waksman y la bacitracina de Meleney.

Existe motivo para creer que en los años venideros se habrán de descubrir otros antibióticos más específicos y potentes.

En la higiene y salud públicas han tenido lugar las más beneficiosas aplicaciones de la Bacteriología, con objeto de dominar y suprimir las enfermedades infecciosas. Excepto para enfermedades transmitidas por las vías respiratorias, la mayor parte de las dolencias epidémicas de la humanidad han sido dominadas siguiendo los principios de la Bacteriología y la Inmunología. No es una exageración afirmar que la vida moderna debe su seguridad a la actividad tutelar de los bacteriólogos.

BIBLIOGRAFIA

Arthus, M. M. *Compt. rend. Soc. de biol.*, 1903, 55:817.
Baron, J. *The Life of Edward Jenner, M.D.*, London, 1827.
Bayne-Jones, S. *Science*, 1931, 73:599.
Behring, E. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1890, 16:1145.
Behring, E., and Kitasato. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1890, 16:1113.
Beijerinck, M. W. *Centralbl. f. Bakteriol.*, 1899, 5:29.
Billroth, T. *Untersuchungen über die Vegetationsformen von Coccobacteria Septica*, Berlin, 1874.
Bordet, J. *Studies in Immunity*. Traducida por F. P. Gay, New York, 1909.
Borel, P. *Historiarum et Observationum Medicophysicarum*, 1653.
Bulloch, W. *History of Bacteriology*, Medical Research Council, London, 1930.
Buttle, G. A. H., Gray, W. H., and Stephenson, D. *Lancet*, 1936, 1:1286.
Cagniard-Latour. *Compt. rend. Acad. d. sc.*, 1837, 4:905.
Calandruccio, S. *Agustino Bassi, di Lodi, Il Fondatore della Teoria Parasitaria*. Catania, 1892.
Chain, E., Florey, H. W., Gardner, A. L., Heatley, N. G., Jennings, M. A., Orr-Ewing, J., and Sanders, A. G. *Lancet*, 1940, 2:226.
——*Lancet*, 1941, 2:177.
Chamberland, C. *Compt. rend. Acad. d. sc.*, 1884, 99:247.
Cohn, B. *The Leeuwenhoek Letter*. A photographic copy of the letter of the 9th of October, 1676 sent by Antony van Leeuwenhoek to Henry Oldenberg, Secretary of the Royal Society of London, Published by the Society of American Bacteriologists, Baltimore, 1937.
Cohn, F. *Beitr. z. Biol. d. Pflanz*, 1872, 1, 2:127-224; 1876, 2, 2:249.
Colebrook, L., and Kenny, M. *Lancet*, 1936, 1:1279.
Davaine, C. J. *L'Oeuvre de C.-J Davaine*, Paris, 1899, 1-93, 490-575.
de Bary, A. *Johresb, ü. d. Leistung. d. ges. Med.*, editada por R. Circow y A. Hirsch, 1868, 2:244.
d'Herelle, F. *Compt. rend. Acad. d. sc.*, 1917, 165: 373.
Disney, A. N. *Origin and Development of the Microscope*, London, 1928.
Dobell, C. *Parasitology*, 1923, 15: 308-319.
—— *Antony von Leeuwenhoek and His "Little Animals"*, New York, 1932.
Domack, G. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1935, 61:250.
Donné, A. *Recherches microscopiques sur la nature des mucus*. Paris, 1837.
Dubos, R. J., *et al. Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1939, 40:311.
—— *J. Exper. M.*, 1939, 70:1.
—— *Ann. Int. Med.*, 1940, 13:2025.
DuClaux, E. *Pasteur, the History of a Mind*. Traducida del francés por Erwin F. Smith. Philadelphia, 1920.
Ehrlich, P. *Klin. Jahrb.*, 1897, 6:299.
——*Collected Studies on Immunity*. Traducida por C. Bolduan, New York, 1906.
Erenberg, C. G. *Die Infusionsthierchen als volkommene Organismen*. Leipzig, 1838.
Eichstedt. *Neue Notiz. a. d. geb. d. Natur. u. Heilkunde*, 1846, 39:270.
Fleming, A. *Brit. J. Exper. Path.*, 1929, 10:226.

Fleming, A. *J. Path. & Bacteriol.*, 1932, 35:831.
Ford, W. W. *Johns Hopkins Hosp. Bull.*, 1911, 22:415.
Fracastorius, H. *De contagionibus et contagiosis morbis et eorum curatione, libri tres*, Venice, 1546. Consulted in the German translation by Viktor Fossel, in the Klassiker der Medizin series, 1910.
Gage, S. H. *The Microscope*, 15th ed., Ithaca, 1932.
Godlee, J. *Lord Lister*, London, 1917.
Hallier, E. *Gahrungserscheinungen*, Leipzig, 1867.
Henle, J. *Pathologische Untersuchungen*, Berlin, 1840.
Iwanowski, D. *Bull. d. Acad. imp. d. Sci. d. St. Petersbourg*, 1892, 13:237. Quoted from *Centrabl. f. Bakteriol.*, 1899, 5:250.
Jenner, E. *An Inquiry into the Causes and Effects of the Variolae Vaccinae*. London, 1798, p. 13.
Kircher, A. *Scrutinium physico-medicum Contagiosae Luis, quae Pestis dicitur*, Rome, 1658, 42, 141-142.
Koch, R. *Beitr. z. Biol. d. Pflanz.*, 1876., 2, 2:277-308.
———*Gesammelte Werke*, ed. by G. Gaffky and E. Pfuhl, Leipzig, 1912.
———Zur Zuchtung von pathogenen Mikroorganismen, *Mitt. a. d. Kaiserlichen Gesundheitsamte*, 1881, 1:1-48.
Levaditi, C., and Lépine, P. *Les ultravirus des maladies humaines*, Paris, 1938.
Levaditi, C., and Vaisman, A. *Compt. rend. Soc. de biol.*, 1935, 119:946.
Linnaeus, C. *Systema naturae*, 10th ed., Holmiae, 1758, 820-821.
Lister, J. *The Collected Papers of Joseph, Baron Lister*, 2 vols., Oxford, 1909.
Löffler, F. *Vorlesungen über die geschichtliche Entwickelung der Lehre von Bacterien*, Leipzig, 1887.
Löffler, F., and Frosch. *Centralbl f. Bakteriol.*, 1898, 23:371.
Magendie, F. *Lectures on the Blood*. Traducción. Philadelphia, 1839.
Meleney, F. L., and Johnson, B. *J.A.M.A.*, 1947, 133:675.
Metchnikoff, E. *L'Immunité dans les maladies infectieuses*. Paris, 1901. Traducida por F. G. Binnie, Cambridge, 1905.
Müller, O. F. *Animalcula infusoria*, Hauniae, 1786.
Needham, T. *Philosoph. Trans.*, 1749, 490:615. Quoted by Bulloch.
Nordtmeyer, H. *Ztschr. f. Hyg.*, 1891, 10:145.
Nuttall, G. H. F. *Parasitology*, 1924, 16:214.
———*Ztschr. f. Hyg.*, 1888, 4:353.
Obermeier, O. H. F. *Centralbl. f. d. med. Wissensch.*, 1873, 11:145.
Otto, R. *Gedenkschrift f. R. von Leuthold*, 1906, 1:153.
Pasteur, L. *Ann. de chim. et phys.*, 1862, 64:5-110.
———*Oeuvres de Pasteur*, Paris, 1922-1928.
Plencïz, M. A. *Opera medico-physica*, Vindobonae, 1762, 13-35.
Portier, and Richet, C. *Compt. rend. Soc. de biol.*, 1902, 54:170.
Rayer. *Compt. rend. Soc. de biol.*, 1850, 2:141-144.
Redi, F. *Esperienze intorno alla generazione degl'insetti*, 5th ed., Florence, 1688. A translation of this book was published by M. Bigelow, Chicago, 1909.
Roddis, L. H. *Edward Jenner and the Discovery of Smalpox Vaccination*. Menasha, Wisconsin, 1930.
Salmon, D. E., and Smith, T. *Proc. Biol. Soc.*, Washington, 1886, 3:29.
Schoenlein. *Arch. f. Anat., Physiol. u. Wissenchftl. Med.*, 1839, 82.
Schröder, H., and von Dusch, T. *Ann. d. Chem. u. Pharmacie*, 1854, 89:232.
Schulze, F. *Ann. d. Phys. u. Chem.*, 1836, 39:487.
Schwann, T. *Ann. d. Phys. u. Chem.*, 1837, 41:184.
Singer, C. *Janus*. 1911, 16:81-98.
———*Studies in the History and Method of Science*, Oxford, 1921, Vol. 2, 385, 408.
———"The Dawn of Microscopical Discovery", *J. Roy. Micr. Soc.*, 1915, 317-340.
Spallanzani, L. *Saggio di osservazioni microscopiche*, Modena, 1765. This reference is quoted from Bulloch.
Stanley, W. M. The isolation and properties of tobacco mosaic and other virus proteins. *The Harvey Lectures*, 1938, Ser. XXXIII, p. 170.
Tréfouël, J., Tréfouël, Mme. J., Nitti, F., and Dovet, D. *Compt. rend. Soc. de biol.*, 1936, 120:756.
Twort, F. W. *Lancet*, 1915, 2:1241.
Tyndall, J. *Essays on the Floating-Matter of the Air in Relation to Putrefaction and Infection*, New York, 1882.
Vallery-Radot, R. *The Life of Pasteur*. Obra traducida por R. L. Devonshire, New York, 1926.
Van Helmont, J. B. Ortus medicinae id est initia physicae inaudita, Tract 21, *Imago fermenti impraegnat massam semine*, Elzivir, Amsterdam, 1648, Part, 9, p. 113.

VAN LEEUWENHOEK, ANTON. *Arcana naturae detecta*, Delft, 1695, 42.
VILLEMIN, J. A. *Compt. rend. Acad. d. sc.*, 1865, 61:1012-1015.
VON PIRQUET, C. F., and SCHICK, B. *Die Serumkrankheit*, Leipzig, 1905.
WAKSMAN, S. A. *Bacteriol. Rev.*, 1941, 5:231.
WAKSMAN, S. A., *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1944, 55:66.
WRISBERG, H. A. *Observationum de animalculis infusoriis*, Goettingen, 1765, 82.
ZEISS, H. *Arch. f. Gesch. d. Med.*, 1923, 15:161.
———OTTO OBERMEIER: *Die Entdeckung von fadenförmigen Gebilden im Blut von Ruckfallfieberkranken*, Vol. 31, 1926.

CAPITULO II

MORFOLOGIA GENERAL Y REPRODUCCION DE LAS BACTERIAS

Las bacterias son organismos vegetales unicelulares, diminutos, sin clorofila. Generalmente se multiplican por fisión binaria. Pueden presentarse libres o en agregados, formando grupos multicelulares o colonias. Cada célula en la colonia es fisiológicamente independiente, si bien está influída por los cambios del medio producidos por las células vecinas.

Las células bacterianas tienen un número de formas básicas o fundamentales que en términos generales, pueden agruparse en tres clases principales: los cocos o esferas, los bacilos o bastones rectos y los espirilos o formas en bastón incurvadas (fig. 3).

Los cocos, cuando están totalmente desarrollados y libres, son perfectamente esféricos Cuando dos o más están en oposición pueden ser ligeramente aplanados a lo largo de la superficie tangencial, tomando aspecto oval.

Los bacilos, o formas en bastón, consisten en células alargadas, de longitud de dos a diez veces mayor que su anchura, con los extremos cortados en escuadra, como en el caso de *Bacillus anthracis*, o algo redondeados como en el del bacilo tífico.

Los espirilos pueden variar desde pequeños organismos en forma de coma, con una sola curva, a formas más largas y sinuosas, que, en términos generales, pueden compararse a tirabuzones de cinco, seis o más curvas. Las vueltas, en los microorganismos típicos de esta clase, están siempre en tres planos y son helicoidales más bien que curvas simples.



Fig. 3. Morfología.

1. Cocos aislados. *2.* Cocos a pares. *3.* Cocos en cadena. *4.* Cocos en racimo. *5.* Cocos en tétrada. *6.* Cocobacilos. *7.* Bacilos en forma de clava o maza. *8.* Bacilos con extremos redondeados. *9.* Bacilos con extremos cortados en escuadra. *10.* Bacilos fusiformes. *11.* Vibriones. *12. Spirilla. 13. Borrelia. 14. Treponema. 15. Leptospira.*

Entre los microorganismos conocidos, los bacilos son mucho más numerosos que las otras formas y constituyen, sin que haya duda alguna, la variedad más común de bacterias.

Aun en condiciones normales pueden ocurrir muchas variaciones de los tipos fundamentales. La significación de estas variaciones será estudiada en otros capítulos.

El tamaño de las bacterias está sujeto a variación considerable. Los cocos pueden variar desde 0,15μ a 2μ de diámetro. El tamaño medio de los cocos ordinarios del pus varía desde 0,8μ a 1,2μ de diámetro. Se puede obtener una ilustración gráfica del tamaño de un estafilococo calculando que dos mil millones de micrococos pueden estar fácilmente contenidos en una gota de 1 mm^3 de volumen. Entre los bacilos

la variación del tamaño aun está sujeta a mayores variaciones. Probablemente el menor de los bacilos comunes es el bacilo de la influenza, el cual mide alrededor de 0,5μ de longitud por 0,2μ de grosor. Algunos de los microorganismos conocidos alcanzan el límite de las posibilidades ópticas del microscopio moderno; ciertas enfermedades están causadas por virus filtrables ultramicroscópicos.

Por medio de los microscopios modernos con luz transmitida directa o por iluminación oblicua se pueden ver muchos detalles de las estructuras más finas. Asimismo, se ponen de manifiesto estructuras muy pequeñas por el uso de rayos de muy poca longitud de onda. Estos métodos que utilizan radiaciones invisibles requieren la fotografía para el registro de las imágenes. Estructuras muy pequeñas, incluyendo algunos virus, han sido fotografiadas con luz ultravioleta. El progreso más reciente, desde 1937, es el invento del *microscopio electrónico*, aplicado por primera vez al estudio de las bacterias por Marton, Von Borries y Ruska, y Krause. Con instrumentos y técnicas perfeccionadas, Mudd y Anderson, Knaysi, Wyckoff, Johnson y otros han añadido mucho a nuestros conocimientos acerca de morfología bacteriana. Se han obtenido aumentos hasta de 100 000 diámetros y fotografiado partículas de 10 mμ.

Morfología de la célula bacteriana. La mayor parte de las bacterias, cuando están sin teñir, son cuerpos homogéneos o granulosos, incoloros, transparentes, de índice de refringencia aproximadamente igual al del agua. La célula bacteriana consta de cuatro estructuras morfológicamente distintas —protoplasma, membrana citoplásmica, pared celular y cápsula—, cada una diferente en constituyentes químicos, fisiológicos y antigénicos. El cuerpo protoplasmático es líquido, o potencialmente líquido, coloide, rodeado por una membrana citoplásmica extremadamente fina, flexible y elástica. Esta membrana es fisiológicamente activa y se compone, al menos en parte, de lipoproteínas (Knaysi, 1944). Las observaciones hechas en el campo obscuro muestran al citoplasma negro rodeado por una línea brillante que corresponde a la membrana. Por los métodos usuales de tinción, esta membrana se tiñe más intensamente que el citoplasma y resiste por mayor tiempo la decoloración. Cuando la célula se plasmoliza, esta membrana se contrae con el citoplasma, se separa de la pared celular y se puede fotografiar fácilmente con el microscopio electrónico (Mudd, Heinmets y Anderson, 1943).



FIG. 4. ESTRUCTURA MORFOLÓGICA DE UN BACILO.

A. Pared de la célula. *B.* Protoplasma. *C.* Capa gelatinoide o cápsula. *D.* Flagelo. (Tomado de Pijper. *J. Path. & Bact.*, 1946, 58:325.)

La pared celular, en condiciones normales, está en contacto directo con la membrana citoplásmica (fig. 4). Esta pared es delgada, pero más gruesa que la membrana citoplásmica; consta probablemente de varias capas que tienen diferentes funciones fisiológicas y antigénicas. La pared celular está dotada de alto grado de elasticidad, ductilidad y resistencia, como han demostrado la microdisección y la observación

directa de los organismos vivos. Se les ve modificar su forma al chocar con un cuerpo sólido, para volver otra vez a la forma característica de la especie. La pared celular no se tiñe por los colorantes bacterianos ordinarios, a menos de que se trate previamente con el mordiente adecuado (Knaysi, 1942), y no es visible cuando se examinan las células vivas en campo obscuro; pero se delinea con claridad en las microfotografías electrónicas (fig. 5). En las células completamente plasmolizadas, la pared celular dura persiste como *sombra* (fig. 13*C*). Cuando se tiñen cultivos vivos de *Bacillus subtilis* con soluciones diluídas de cristal violeta, la pared celular toma ligero color púrpura y se puede ver rodeando a la membrana citoplásmica teñida en violeta más obscuro, que, a su vez, encierra el protoplasma de color violeta claro (Knaysi, 1930). La estructura química de la pared celular es aún objeto de investigación. No hay pruebas de que la quitina, que se encuentra en la pared celular de muchos hongos, esté presente en las bacterias. Knaysi (1944) cree que la composición química varía con la especie; consiste en glúcidos complejos, celulosa verdadera o hemicelulosa, en algunas especies y una substancia nitrogenada relacionada con la mucina, en otras.



FIG. 5. PARED DE LA CÉLULA.

Microfotografía electrónica de *B. cereus;* véase la pared celular incolora que encierra una cadena de bacilos. (Según Johnson, *J. Bact.*, 1944, 44:551.)

En condiciones normales, la pared celular está rodeada por una capa gelatinosa, flojamente adherida, de substancias mucoides de alto peso molecular, que se difunden constantemente en el medio. Cuando el material viscoso se produce en cantidades suficientes y permanece concentrado en la superficie de la pared celular, se le llama cápsula; ésta es la substancia que da consistencia filante a los cultivos, y superficie húmeda y brillante a las colonias que crecen en medios sólidos (Dubos, 1946). La substancia capsular no es visible en campo obscuro. En las células vivas se puede teñir de un tenue color púrpura con cristal violeta (Knaysi, 1930). Por lo general la substancia capsular se puede demostrar por precipitación con sales de cobre, alcohol metílico o etílico, con ácido acético o sin él, seguida de tinción con colorantes de anilina (Hiss, 1905). Mudd, Heinmets y Anderson (1943) han fotografiado cápsulas de neumococos con el microscopio electrónico.

La substancia capsular es producida, al parecer, por la pared de la célula viva. Se pueden extraer substancias químicas y antigénicas similares de las bacterias que no tienen cápsula demostrable o de las células bacterianas cuyas cápsulas han sido separadas por medios mecánicos (Dubos, 1946).

Los organismos encapsulados son fagocitados con dificultad por los leucocitos normales; la virulencia de neumococos, bacilo de Friedländer y bacilo de la influenza está asociada con la presencia de cápsulas bien desarrolladas. Sin embargo, muchos organismos no patógenos tienen, asimismo, cápsulas bien desarrolladas; la formación de cápsulas se puede inducir en muchas razas no encapsuladas en fase de variación mucoide. Muchas bacterias patógenas, como las que causan el carbunco y la peste,

no tienen cápsulas cuando crecen en medios artificiales, pero la adquieren rápidamente dentro del cuerpo del animal infectado. En algunas especies, como los neumococos, la pérdida de la cápsula se acompaña de una disminución o pérdida completa de virulencia.

La capacidad de producir la substancia capsular es un carácter hereditario que solamente se pierde cuando los cultivos sufren variación o disociación, pero su expresión está determinada por factores del medio.

Bovarnick (1942) encontró que la cápsula del bacilo del carbunco era un polipéptido del ácido d-glutámico. La substancia capsular de otras especies bacterianas estudiadas hasta el presente se compone esencial o exclusivamente de polisacáridos de gran molécula, generalmente de naturaleza ácida y que con frecuencia poseen grupos acetilo y amino (Dubos, 1946). La substancia capsular no es esencial para la vida de los organismos. La cápsula de neumococo de tipo III se puede hidrolizar fácilmente por una enzima (Dubos y Avery), 1931); la cápsula de otros organismos se puede extraer por lavados con disolventes acuosos neutros, sin afectar en modo alguno la viabilidad de las bacterias (Dubos, 1946).

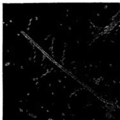


Fig. 6. Flagelos.

Microfotografía por iluminación en campo obscuro de la célula viva de *Proteus vulgaris* suspendida en solución de gelatina. La reducción aparente en el número de flagelos se debe a estar adheridos unos con otros. (De Neumann.)

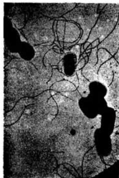


Fig. 7. Flagelos.

Microfotografía electrónica mostrando los flagelos de *Salmonella typhosa*. (Según Mudd, Polevitsky y Anderson, *Arch. Path.*, 1942, 34: 199.)

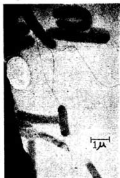


Fig. 8. Flagelos de bacilo vírgula.

Microfotografía electrónica: flagelos aparentemente sujetos al protoplasma de la célula. (Según Mudd y Anderson, *J. Exper. Med.*, 1942, 76: 108.)

Los estudios de Pijper (1938), Mudd y Anderson (1941) y Dubos (1946) indican que los antígenos específicos del bacilo tífico están dispuestos en capas formes. El antígeno H está en los flagelos y también en la superficie de la capa mucoide.

Organos de locomoción. Muchas bacterias, cuando están suspendidas en una gota de líquido, son activamente móviles. Sin embargo, es importante distinguir entre la motilidad real y el llamado movimiento browniano o movimiento molecular, que se produce siempre que se suspenden en un líquido pequeñas partículas.

El movimiento browniano o molecular es un fenómeno que se explica por el bombardeo molecular y no tiene, en absoluto, relación con la motilidad independiente. Este se puede ver cuando se suspenden en agua partículas de carmín o de otra substancia insoluble; consiste en una rápida oscilación de vaivén durante la cual no hay un cambio permanente en la posición de la partícula, que sólo se mueve cuando está influída por corrientes dentro de la boca.



FIG. 9. BACILO DE FORMA HELICOIDAL. Forma helicoidal de *Salmonella typhosa* descubierta por película tomada a pequeña velocidad. (Según Pijper, *J. Path. & Bact.*, 1946, 58: 325.)

La movilidad verdadera de las bacterias, por el contrario, es movimiento activo debido a impulsos originados en las bacterias mismas; la posición real de la bacteria en el campo cambia permanentemente.

Se ha supuesto, desde el comienzo de las investigaciones bacterianas, que los bacilos móviles, vibriones y algunas especies raras de cocos, eran impulsados por la acción vibratoria de los flagelos, en manera análoga a los protozoarios ciliados. Se supo, sin embargo, que éste no era el único método de locomoción, ya que algunos de los tiobacilos, que no tienen flagelos, se desplazan con movimiento lento, verminoso y las espiroquetas lo hacen rápidamente por contracciones rítmicas locales. Cuando estas estructuras flagelares se tiñen por los métodos usuales, se encuentran enrolladas en masa o enteramente despegadas de las células. Las fotografías de campo obscuro de Neumann (fig. 6) muestran también estos órganos irregularmente distribuídos y enredados. La microfotografía electrónica (Mudd, Polevitsky y Anderson, 1943) descubre flagelos separados, largos de unas 10 mμ de diámetro (fig. 7). Los flagelos de los vibriones son algo más gruesos, de 20 mμ de diámetro, y parecen estar sujetos a un gránulo basal existente en el citoplasma (fig. 8). Sin embargo, las microfotografías electrónicas no han demostrado gránulos basales, ni prueba alguna de que los flagelos estuvieran sujetos al protoplasma o a la pared de la célula.

Pijper (1946-1947) estudió la forma y movimiento de los bacilos por su técnica especial de campo obscuro que utiliza la luz directa del sol como fuente de iluminación. Con imágenes cinematográficas tomadas a distintas velocidades y mediante observaciones directas, Pijper llegó a dos conclusiones algo revolucionarias: los bacilos móviles no tenían forma de bastón, sino que eran helicoidales (fig. 9); los flagelos eran consecuencia, no causa, de la motilidad. Los bacilos sin flagelos con frecuencia se ven moviéndose rápidamente en el campo obscuro. Pijper describió

bacilos en movimiento, arrastrando sus *flagelos* detrás de ellos (fig. 10*A*). Cuando el microorganismo hace su movimiento más lento, es frecuente observar que este material se divide en dos colas (fig. 10*B*) que se unen de nuevo en una masa única cuando se reanuda el movimiento rápido. Cuando la célula está próxima a morir, este material se desenrolla en las numerosas fibrillas finas que se observan en las microfotografías electrónicas (fig. 7). Cuando el bacilo invierte la dirección de su movimiento, la cola arrastrada que se ve en las figuras 10*A* y 4 ondea hacia atrás alrededor del cuerpo del bacilo y aparece entonces como implantada en el otro extremo. La cápsula o capa mucoide estaba muy flojamente adherida a la pared celular y Pijper observó bacilos que giraban de 180° dentro de su capa mucoide y



Fig. 10*A*. Flagelos.

Masa de material flagelar arrastrada por un bacilo en movimiento. (Según Pijper, *J. Bact.*, 1947, 53:257.)

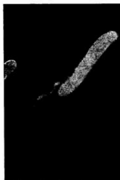


Fig. 10*B*. Flagelos.

Bacilo en reposo; el material flagelar se halla reunido en dos masas. Notese cómo sugieren la forma helicoidal. (Según Pijper, *J. Bact.*, 1947, 53:257.)

continuaban en la misma dirección arrastrando su cola detrás (fig. 4). La forma helicoidal de los flagelos aislados era causada por el movimiento helicoidal del bacilo al retorcer los polisacáridos complejos de la capa gelatinosa.

Conn y Elrod (1947) han estudiado con el microscopio electrónico los flagelos de la especie *Rhizobium* y la motilidad de *E. coli* y *B. cereus* en las soluciones de *methocel* * de Pijper. Estos autores admiten, con Pijper, que la substancia mucoide ondea por detrás de las bacterias móviles y produce seudoflagelos, pero indican que los bacilos móviles pueden tener verdaderos flagelos ocultos por el material arrastrado. Es probable que la motilidad de las bacterias dependa de un mecanismo complejo.

Las microfotografías electrónicas de *Treponema pallidum* y de *T. macrodentium*, obtenidas por Mudd, Polevitsky y Anderson (1943), descubrieron flagelos, pero no en las de *T. microdentium*. En observaciones propias, utilizando fondo obscuro y

* *Methocel* es el nombre registrado de una película plástica de metilcelulosa soluble en agua. (N. del T.)

diversos tipos de espiroquetas tomadas directamente de lesiones y de cultivos, nos convencimos de que tales espiroquetas se mueven por contracción de cuerpos protoplasmáticos y no por flagelos. La hipotética membrana ondulante y los filamentos axiales, espirales y elásticos no fueron encontrados al estudiar las microfotografías electrónicas.



FIG. 11. NÚCLEO DE LA CÉLULA BACTERIANA.

Microfotografía obtenida con luz ultravioleta y el microscopio electrónico. Obsérvese el aspecto de división simultánea de la célula y el núcleo para la formación de dos células hijas. (Según Knaysi y Baker, *J. Bact.*, 1947, 53: 359.)



FIG. 12. CUERPOS CITOPLÁSMICOS.

Microfotografía electrónica. Estos cuerpos citoplásmicos se encuentran en la membrana citoplásmica o inmediatamente debajo de ella. Cuando las células se plasmolizan permanecen adheridos a la pared de la célula (véase la fig. 13). (Según Knaysi, Baker y Hillier, *J. Bact.*, 1947, 53:525.)

La observación directa en gota pendiente y campo obscuro es un método mucho más práctico y seguro para descubrir la motilidad que la tinción de los flagelos. No obstante, la clasificación de las bacterias de Messea, basada en la disposición de los flagelos, sigue siendo válida.

I. Gimnobacterias, que no poseen flagelos.
II. Tricobacterias, con flagelos.
   1. Monotricas, que tienen un solo flagelo en un polo.
   2. Lofotricas, que tienen un manojo de flagelos en un polo.
   3. Anfitricas, con flagelos en ambos polos.
   4. Peritricas, con flagelos que rodean completamente el cuerpo bacteriano.

Núcleo celular e inclusiones citoplásmicas. La cuestión de si la célula bacteriana contiene o no un núcleo se ha planteado a los bacteriólogos desde muchos años ha. El cuerpo bacteriano, ¿contiene núcleos?; ¿es núcleo todo él?; ¿o está la substancia nuclear esparcida difusamente por el citoplasma? Zettnow (1897-1918), Meyer (1912), Gutstein (1924), Barnard (1930), Hollande (1934), Lindegren (1935), Piekarski y Ruska (1939), Lewis (1941), Robinow (1944-1946),

y Knaysi (1943, 44, 47) han resumido nuestros conocimientos sobre la situación del núcleo. Las técnicas especiales de tinción y las fotografías con luz ultravioleta y microscopio electrónico indican que la substancia nuclear existe. En ciertas condiciones es difusa y está esparcida por toda la célula; otras veces forma un núcleo compacto reconocible, que se divide con la célula (fig. 11). Con microfotografías electrónicas Knaysi (1947) ha observado cuerpos nucleares apareados en las esporas de *Bacillus mycoides*.

Puede haber gránulos citoplásmicos de diversa naturaleza, que frecuentemente han sido confundidos con material nuclear. Las más notables de estas substancias son los cuerpos polares o gránulos de Babes-Erust, tan característicos del grupo diftérico. Estos gránulos metacromáticos, que se tiñen en azul obscuro por el azul de metileno, al presente se sabe ya que son de volutina (Grimme 1902; Heucke y Henneberg, 1934).

Lewis (1941) y Painter y Taylor (1942) han estudiado gránulos de grasa, glucógeno y otros. En sus estudios sobre el núcleo, Knaysi y Baker (1947) eliminaron estos gránulos no específicos matando los bacilos por agotamiento del material nutritivo y confirmaron su ausencia por métodos especiales de tinción antes de hacer sus fotografías (figs. 11 y 12). Knaysi también observó un segundo tipo de cuerpo específico, pequeño y muy delgado, compuesto de hebras perladas y gránulos situados en la membrana citoplásmica (figs. 12 y 13). Se pensó que estos cuerpos participaban en la formación de las placas cruzadas en el momento en que se produce la división celular.



FIG. 13. BACILOS GRANDES.
Microfotografía electrónica: forma helicoidal de la célula *b*, material nuclear en las células *a* y *b*, y cuerpos citoplásmicos en la "sombra" de células *c*. (Según Knaysi y Baker, *J. Bact.*, 1947, 53: 539.)

Esporas bacterianas. De las bacterias en forma de bastón se conocen unas cien especies aerobias y unas cincuenta anaerobias, que pueden desarrollar una especie de enquistamiento o estado de reposo, por un proceso conocido como esporulación o formación de esporas. El cuerpo así formado dentro de la célula bacteriana se llama endospora. Las bacterias esféricas y las espiroquetas no producen endosporas. Por tanto, la formación de endosporas es un carácter distintivo de la familia *Bacillaceae*, de la cual el género aerobio es llamado *Bacillus* y el anaerobio *Clostridium*. Los organismos de este grupo se encuentran principalmente en el contenido intestinal del hombre y de los animales, en el suelo, agua y aire. La mayor parte son saprófitos. Otras, capaces de causar enfermedad, no son parásitos estrictos; de hecho, solamente producen sus efectos cuando anidan para su desarrollo en tejidos muertos o alterados dentro del organismo animal. Como hemos visto, los microorganismos capaces de formar esporas desempeñaron importante papel en los fenómenos investigados durante la controversia sobre la generación espontánea, y conti-


FIG. 14. DIVERSAS POSICIONES DE LAS ESPORAS EN LAS CÉLULAS BACTERIANAS.

núan siendo de gran importancia en Bacteriología industrial, médica y veterinaria. En este lugar consideraremos principalmente los aspectos biológicos de las endosporas.

Una variedad de cuerpos refringentes observados dentro de las bacterias se ha supuesto que serían diferentes clases de esporas. Los gránulos metacromáticos de Babes-Ernst, que alguna vez se pensó tenían las propiedades de las esporas, se sabe ahora que son material de reserva o productos de degeneración. No se ha demostrado que las artrosporas se presenten en las bacterias verdaderas. Ciertamente, las células que contienen cuerpos considerados como artrosporas no se ha demostrado que sean particularmente resistentes al calor o a otros agentes deletéreos. No obstante, las pruebas de germinación pueden proporcionar mayor información que las pruebas de resistencia al calor acerca de las posibles propiedades esporulares de algunos de estos gránulos.



FIG. 15. NÚCLEO EN ESPORULACIÓN. Microfotografía electrónica: un par de cuerpos nucleares van a ser incluídos en una espora. (Según Knaysi y Baker, *J. Bact.*, 1949, 53:539.)

La verdadera endospora es un cuerpo altamente refringente que se forma dentro de la célula bacteriana en cierto período de su desarrollo. El tamaño, forma y posición de la espora son caracteres relativamente constantes de la especie, y por tanto, de cierto valor para distinguir entre sí los diferentes tipos de bacilos. La posición de la espora en la célula puede ser central, subterminal o terminal. Puede ser del mismo tamaño que la célula, menor o mayor, y causar un abultamiento de ésta. En la figura 14 se muestran varias disposiciones típicas.

La célula vieja o esporangio encierra la espora durante varias horas o días, según las condiciones. Finalmente se desintegra, liberando la espora, que puede permanecer en estado latente durante años.

Las esporas de los bacilos son notablemente resistentes al calor, desecación y desinfectantes. Las esporas pueden, según su edad y antecedentes, sobrevivir a la ebullición en agua o líquidos alcalinos por más de una hora y pueden resistir el calor seco a 150° C. por igual tiempo. Los períodos de calentamiento y las temperaturas utilizadas en los métodos de esterilización usados en Bacteriología, Cirugía e industrias de conservas alimenticias, están determinados por la resistencia térmica de las esporas. Estas son relativamente impenetrables a los colorantes y una vez teñidas son difíciles de decolorar. En general, las esporas resisten condiciones físicas y químicas del medio que destruirían las formas vegetativas de la misma o de otras especies de microorganismos.

Esta resistencia a las condiciones desfavorables sirve a los organismos para superar los períodos adversos en el aire o en el suelo. Se ha pretendido, pues, que las bacterias forman esporas con objeto de sobrevivir en condiciones desfavorables. Este es un punto de vista teleológico que, como demostraremos, parece ser incorrecto o, por lo menos, inadecuado para dar una idea real del mecanismo íntimo de la formación de las esporas.

Bayne-Jones y Petrilli (1933) y Wyckoff y Ter Louw (1931) no encontraron pruebas de estructura nuclear en la preespora, ni en la espora. Knaysi y Baker (1947), usando el microscopio electrónico, observaron dos o más cuerpos nucleares separados por un área de citoplasma más denso que el restante de la célula madre (fig. 15). Cada espora parece que incluye, por lo menos, hasta dos cuerpos nucleares.

Las condiciones que influyen en la formación de esporas son diversos. Sin embargo, las diferencias deben relacionarse con diferencias de especies, y no indican que la esporulación en una especie determinada ocurra en respuesta a influencias ejercidas por un conjunto heterogéneo de condiciones desfavorables. La esporulación no se produce si se someten los organismos a condiciones desfavorables en el comienzo del crecimiento. Como descubrió Pasteur, se pueden producir bacilos del carbunco no esporulados por desarrollo del cultivo a temperatura de 42°-43° C. Al comienzo del desarrollo, la falta de oxígeno para los aerobios, o un exceso de oxígeno para los anaerobios, la falta de humedad, la presencia de substancias dañinas, ácidos o desinfectantes, radiaciones subletales y cualquier factor perturbador del crecimiento inhibirán la formación de esporas. Es preciso que se reúna una larga serie de condiciones óptimas para que se desarrollen endosporas. Así, pues, la espora no se habrá desarrollado primariamente como adaptación al ambiente desfavorable.

Cuando se ha alcanzado el período de crecimiento apropiado para la esporulación, poco después del final del llamado período de multiplicación logarítmica, como ha demostrado Henrici, la acumulación de productos catabólicos, el agotamiento del material nutritivo, pequeñas cantidades de oxígeno en cultivos de anaerobios (Zinsser) y otros factores pueden servir para precipitar la formación de endosporas. No obstante, hemos podido observar organismos en estado de preesporulación que procedían a completar la esporulación, aun cuando fueran transferidos de un medio viejo a un substrato nutritivo fresco. Esto indica que existe cierta inercia en el proceso.

La función de la endospora no es multiplicativa, ya que un bacilo forma una espora de la cual surge un solo bacilo por germinación. Ocasionalmente se forman dos esporas en un bacilo y hay unas pocas especies con dos esporas, pero esto ocurre rara vez y el número de células no suele multiplicarse por la esporulación de las bacterias. Sin embargo, las esporas pueden tener alguna significación reproductiva. El ciclo de bacilo a bacilo a través de la espora es de la naturaleza de un ciclo de vida, como establecieron Cohn y Koch. Desde el principio, sin embargo, la espora se ha considerado como un estado de reposo, una forma de célula resistente a condiciones deletéreas. En nuestro capítulo sobre variación de las bacterias discutiremos las pruebas para considerar la espora como un producto de conjugación sexual o como un mecanismo no sexual de rejuvenecimiento bacteriano. Aunque estas cuestiones son objeto de controversia, estamos convencidos por nuestras propias observaciones que en el ciclo de vida bacteriano la formación de la endospora tiene un significado mayor que el de producción de una forma temporal de resistencia.

Cook (1932) ha revisado la literatura desde 1876 a 1932 sobre formación de esporas y subsiguiente germinación. Los estudios de Knaysi, Baker y Hillier (1947) con el microscopio electrónico han proporcionado informaciones muy valiosas. La cubierta de la espora se compone de una envoltura interna rígida y otra externa más elástica. Ambas envolturas se desprenden y la nueva célula aparece con una membrana citoplásmica preformada y sin flagelos.

Siempre que las esporas de cualquier microorganismo son llevadas a un medio adecuado para el desarrollo bacteriano, o sometidas a condiciones de temperatura, humedad y nutrición favorables, se desarrollan en formas vegetativas. Este proceso difiere según la especie. En general, consiste en un alargamiento del cuerpo de la espora con pérdida de su alta refringencia y de su resistencia a los colorantes. La forma vegetativa puede romper la membrana de la espora y salir por uno de sus poros, dejando vacía la cápsula aun visible y adherida al cuerpo del bacilo. Puede tener lugar un proceso ecuatorial análogo en lugar del polar. En ocasiones, las dos mitades de la envoltura de la espora están completamente separadas y cada una queda como un casquete en cada extremo de la célula germen (fig. 16).

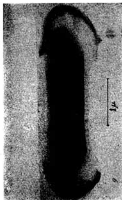


FIG. 16. GERMINACIÓN DE UNA ESPORA. Microfotografía electrónica. Espora recién germinada con porciones de la cápsula rota que permanece sobre los extremos del bacilo. (Según Knaysi, Baker y Hillier, *J. Bact.*, 1947, 53: 525.)

En otras especies puede no haber ruptura de la membrana de la espora; la forma vegetativa surge por alargamiento gradual de la espora y absorción o disolución de la membrana, como lo indica el cambio de reacción para los colorantes. Entonces sobreviene la división por fisión, en la forma ordinaria.

Reproducción de las bacterias. La fisión binaria en dos partes iguales es el modo usual y predominante de reproducción y multiplicación de las bacterias en condiciones normales de cultivo en el laboratorio y en el medio natural. Desde los albores de la Bacteriología se discute si la división simple constituye o no el único modo de reproducción en las bacterias. Hay gran número de pruebas resumidas principalmente por Löhnis en 1922 y aumentadas por otras aportaciones desde entonces, indicadoras de que las bacterias se reproducen por otros mecanismos además de la simple fisión, y que presentan cierto pleomorfismo en la reproducción. En esta sección intentaremos evaluar las formas bacterianas a las cuales diversos investigadores han atribuído significación reproductiva. En el Capítulo IX estudiaremos estas observaciones en relación con la variación bacteriana.

Consideraciones biológicas generales y la probable relación de las bacterias con las algas azul-verdes y los hongos sugieren que pueden reproducirse y multiplicarse por mecanismos diversos, y que cada modo de reproducción puede tener una expresión morfológica distinta. Está bien establecido que muchos organismos unicelulares tienen diversas formas de reproducción; así, pues, es lógico suponer que las bacterias pueden no constituir excepción a lo que parece ser una ley biológica general.

Sin embargo, estas analogías sólo son lógicas y no pueden tomar el lugar de experimentos y observaciones para establecer los hechos referentes a ciclos de vida de las bacterias. Nos parece que la prueba que debe ser aplicada a una forma supuesta reproductiva es la observación directa de su germinación o de su transición a una forma nueva. Todas las formas de transición o formas reproductivas esta-

bilizadas (excepto las ultramicroscópicas) deben ser observadas ininterrumpidamente bajo el microscopio. La validez de una serie de formas reproductivas y su progenie sólo pueden establecerse por series de observaciones visuales o de fotografías microscópicas. Los datos sobre estos puntos, obtenidos por cultivos sin ayuda del microscopio, por pases animales, por filtración y otros métodos en que la forma escapa a la observación directa durante un tiempo, tienen valor fuertemente confirmatorio. Pero como otros organismos pueden penetrar en el material no observado, estos métodos no proporcionan resultados concluyentes. La reconstrucción de un ciclo de vida con formas tomadas de cultivos y animales puede muy bien constituir una observación incompleta a base de interpolaciones problemáticas.

Se han descrito alteraciones nucleares en relación con la reproducción de células bacterianas. Hasta ahora las dificultades para diferenciar las partes diminutas de los minúsculos núcleos organizados o cromidiales de una célula bacteriana han sido casi insuperables. Nakanishi, Enderlein y Mellon han descrito cambios cromosómicos en el núcleo de las células bacterianas en reproducción. Como algunas de estas partículas nucleares se hallan en los límites de la visibilidad microscópica y es posible confundirlas con otros gránulos de la célula, precisa tener confirmación de estas observaciones antes que puedan ser aceptadas.

Los modos de reproducción bacteriana pueden resumirse como sigue:

A. Reproducción asexual por:

1. Fisión binaria.
2. Gemación.
3. Ramificación.
4. Crecimiento filamentoso con segmentación desigual.
5. Formación de conidias.
6. Producción de gonidias.
7. Formación de artrosporas y microquistes.
8. Formación de endosporas.
9. Formación de un simplasma.

B. Reproducción sexual por:

1. Conjugación de dos individuos.
2. Conjugación de varios individuos.

Después de la fusión de las células se supone que el zigoto se puede reproducir sexual o asexualmente.

Aunque no podemos revisar en este lugar todo lo referente a estos modos de reproducción bacteriana, pensamos que son pertinentes los siguientes comentarios:

Fisión binaria. La fisión simple es el modo común de reproducción de las bacterias. La célula bacteriana se alarga hasta alcanzar el tamaño de adulto; entonces se divide en dos partes aproximadamente iguales por formación de una constricción o membrana en ángulo recto con su eje longitudinal. El tamaño del adulto guarda relación con la edad del cultivo. Las células esféricas pueden alargarse ligeramente antes de la división. La fisión transversa se presenta en los cocos, bacilos, espirilos y espiroquetas y se ha observado como tipo subsiguiente de reproducción en algunas de las formas reproductivas especializadas.

Los planos de hendidura de las formas esféricas determinan la conformación de los agregados celulares. La división en un plano produce diplococos o cocos en cadenas (estreptococos). La hendidura en dos o más planos da lugar à grupos en racimo (estafilococos) o una disposición en paquetes o cubos (sarcinas). Las formas cilíndricas o curvadas se pueden adherir, extremo a extremo, en cadenas o espirales. Estas disposiciones tienen valor diferencial.

Gemación. Profusiones laterales o yemas han sido vistas por muchos observadores. Estas yemas pueden agrandarse y segmentarse por fisión mientras están

adheridas a las células, o pueden crecer y multiplicarse por segmentación una vez desprendidas de ellas. Estos estadios han sido seguidos en observaciones continuas por Hort, en cultivos de *S. typhosa*, y otros miembros del grupo tifodisentérico. Observaciones mucho menos completas hechas por otros autores parecen demostrar que en ciertos casos las bacterias se reproducen por gemación.

Ramificación. La reproducción por ramificación empieza por la formación de una yema; se puede considerar, pues, como un tipo especializado de gemación. Se han observado verdaderas ramas en más de setenta especies de bacterias. En 1902, Hill vió ramificación y desarrollo de formas en bastón nacidas de las ramas, en cultivos de *C. diphtheriae* en agar. En 1920, Hort observó el desarrollo de ramas en *S. typhosa*, y en 1925, Gardner llamó a este tipo de reproducción en Y o "multiplicación en tres puntos". Después de la ramificación simple o múltiple, las ramas proyectadas pueden segmentarse dando lugar a células que se reproducen por fisión.

En otros casos, a partir de las ramas originales se desarrollan formas ramificadas, curvas, redondas o en yema. Las formas ramificadas se han observado con mayor frecuencia en los cultivos viejos. También se han visto en cultivos jóvenes en medios ordinarios, en medios ácidos, y se pueden obtener en mayor abundancia por selección de las colonias.

Crecimiento filamentoso. En muchos organismos, en condiciones ordinarias de cultivo, aparecen filamentos largos no segmentados o con segmentación desigual. Ciertas cepas de bacilos de la influenza, bacilo tífico y organismos aerobios formadores de esporas producen filamentos en abundancia durante el crecimiento rápido en medios húmedos. Walker y Murray observaron estas y otras formas en cultivos de bacilo tífico, pero no llegaron a una conclusión precisa acerca de su significación en el ciclo vital del organismo.

Conidias. La conidia es una espora asexual producida por constricción de la parte terminal de un bastón o de una estructura llamada conidiáforo. Los bacteriólogos parecen haber usado este término vagamente, haciéndolo aparecer con frecuencia como sinónimo de gonidia. Los bastones y formas espirales en ocasiones tienen gránulos en sus extremos, sugiriendo que han sido producidos por la célula a la manera de conidias. Las pequeñas yemas laterales, terminales o medianas *(botoncillos)* se han considerado semejantes a conidias. La formación de conidias por las bacterias parece no estar perfectamente probada.

Gonidias. Las gonidias se forman por contracción y segmentación del protoplasma dentro de la célula bacteriana. En una célula se pueden formar dos, cuatro o más gonidias. Escapan de la célula por penetración de la pared celular o son liberadas por desintegración de la membrana envolvente. Estos cuerpos suelen ser redondos, de 0,1 μ a 0,13 μ de diámetro. La principal demostración de la existencia de gonidias en las bacterias ha sido suministrada por Löhnis y Smith, Thornton y Gangulee, Hort, Mellon y Hadley. Las pruebas de que estos cuerpos se pueden reproducir ellos mismos u originar las formas ordinarias de las bacterias respectivas son, en parte, directas y, principalmente, indirectas. El desarrollo de estos gránulos muy pequeños dentro de las bacterias normales, o por una nueva segmentación de gránulos de "tipo gonidial", ha sido seguido por Kahn en observaciones microscópicas directas de un solo bacilo tuberculoso en gota pendiente. Wyckoff nunca ha observado el desarrollo de formas micrococicas *desprendidas* del tipo Shiga de bacilo disentérico. Se sabe que las gonidias son filtrables. El desarrollo de formas bacterianas en productos que se han hecho pasar por filtros de Chamberland y Berkfeld se ha interpretado como prueba de la existencia en los cultivos

no filtrados de elementos bacterianos ultramicroscópicos viables. Se ha supuesto por algunos, sin base firme, que las formas filtrables de las bacterias son idénticas o están estrechamente relacionadas con los virus ultramicroscópicos. Nuestras propias observaciones contradicen este concepto. Estamos de acuerdo en que existen formas filtrables de las bacterias. Su lugar en el ciclo vital de las bacterias, sin embargo, no ha sido establecido todavía. Nos referiremos a estas cuestiones con mayor detalle en otras partes de este libro.

Artrosporas y microquistes. A veces, partes de los cuerpos bacterianos parecen estar encerradas en membranas; algunas observaciones indican que toda la célula puede desarrollar una membrana menos permeable que normalmente. Estas formas, observadas principalmente en cultivos viejos, pueden estar dotadas de mayor resistencia a la desecación y a la edad, pero no aumentan su resistencia al calor. En cuanto a sus propiedades reproductivas no han sido demostradas todavía con claridad.

Endosporas. El mecanismo de formación y el significado reproductor de las endosporas en el ciclo vital de los bacilos han sido descritos en la sección de esporas bacterianas.

Simplasma. Löhnis ha descrito un estado amorfo en el ciclo de la reproducción bacteriana. En este estado las formas bacterianas se desintegran y la materia viviente de numerosas células se mezcla homogéneamente. En condiciones adecuadas aparecen en este simplasma cuerpos regenerativos y de ellos se desarrollan nuevas formas bacterianas. Es evidente que una masa de substancia bacteriana muerta y desintegrada, elementos gelatinosos u otro material intercelular pueden encubrir células bacterianas normales o formas pequeñas, posiblemente gonidias, capaces de desarrollo. En vista de ello, las pretendidas pruebas de que las bacterias se puedan regenerar a partir de una masa totalmente amorfa de un material indeterminado no son convincentes.

Mecanismo sexual de reproducción. La presencia de cromosomas o filamentos de genes fué investigada por Mellon en 1932, Lindegren en 1935, y Luria en 1947, utilizando métodos de tinción, pero el microscopio electrónico no ha suministrado todavía confirmación de la existencia de estas estructuras. Recientemente, Tatum y Lederberg (1947) estudiaron las recombinaciones de genes en *Escherichia coli* inducidas por los rayos X, ultravioletas y mostazas nitrogenadas y encontraron pruebas sugestivas de la existencia de una fase sexual en el desarrollo de variantes.

Morfología de las colonias bacterianas. Un conjunto de bacterias que crecen en un punto se llama una colonia. En medios líquidos en reposo se pueden formar colonias de organismos inmóviles. La más característica formación de colonias tiene lugar en la profundidad o en la superficie de los medios sólidos. El substrato sólido usual se compone de agar o gelatina. Se pueden usar, además, otras substancias sólidas como soporte de las colonias de bacterias: patata, pan, suero coagulado, gel silíceo y tejidos de animales.

En condiciones ideales, una colonia se compone de los descendientes de una sola célula. Esta posibilidad es la base de todos los métodos de cultivo en placa, utilizados desde la introducción por Koch de los medios sólidos, en 1881, para separar una clase de bacterias de otras y obtener así "cultivos puros". Sin embargo, incluso la dilución y la distribución más cuidadosas del material no siempre permiten admitir que una colonia sea resultado de la multiplicación de un organismo. Un grupo de células puede producir una colonia. El grupo se puede componer de células de la misma especie o puede incluir células de especies diferentes. El predominio de crecimiento de un tipo puede ocultar los otros. Algunas veces es

manifiesto que la colonia es producto de varias especies. En otros casos se requieren frecuentes pases para separar los componentes de una colonia mezclada.

Después de la incubación del cultivo durante doce a veinticuatro horas a una temperatura adecuada, la colonia suele hacerse visible. Se debe examinar a simple vista y con poco aumento. El descubrimiento de colonias diminutas requiere el uso de una lupa.

Las colonias de bacterias difieren en configuración, tamaño, forma, color y en sus grados de adherencia al medio. Hay tantas combinaciones de caracteres en las colonias que no tendría ningún provecho enumerarlas aquí. Serán descritas en relación con los microorganismos correspondientes. Aquí debemos subrayar que las características de las colonias son propiedades bastante constantes de grupos e incluso de especies de bacterias. Son, por tanto, datos de valor para diferenciar las bacterias.

La morfología de una colonia está, en principio, relacionada con los movimientos de las bacterias que la componen. Estos movimientos han sido clasificados por Graham-Smith como lazos, pliegues, saltos y deslizamientos. Las colonias de organismos del grupo que forman lazos suelen tener bordes ondulados *(B. anthracis)*. Las de los grupos de pliegues y saltos *(Past. pestis* y *C. diphtheriae)* pueden tener bordes serrados, dentados, con muescas angulares; las del grupo de deslizamiento *(E. coli, Proteus vulgaris)* pueden tener bordes lisos o lobulados, con crecimiento difuso.

Otras muchas condiciones afectan la morfología de las colonias. La naturaleza de los elementos nutritivos, el grado de humedad del medio, la producción por las bacterias de substancia intercelular, la edad del cultivo y otros factores físicos y químicos influyen en la configuración, textura y color de las colonias.

Hay cuatro caracteres generales de las colonias que merecen la mayor atención por su relación con la variación bacteriana. Estos son:

Tipos liso y rugoso. Una sola especie de bacteria es capaz de producir dos tipos distintos de colonias. Uno de ellos, casi siempre en forma de cúpula, con bordes más o menos lisamente curvados y consistencia homogénea, ha sido llamado colonia lisa o de tipo S.* El otro, con bordes angulares agudos, superficie rugosa y consistencia granular, se ha denominado colonia rugosa o de tipo R.* Entre estos extremos hay muchos tipos de transición o intermedios y diferencias sutiles. Un tipo de colonia se puede ver surgir del otro. La lisura y rugosidad de las colonias son también variables según las especies. Las propiedades de morfología, virulencia, actividades bioquímicas y composición antigénica de los organismos están relacionados con los tipos S y R de colonias. Las especies bacterianas se han separado según estas diferencias; los estudios de tales especies disociadas han servido de base para un notable adelanto en la investigación de la variación en las bacterias. En la figura 17, las fotografías *A*, *B*, y *C* muestran colonias lisas, rugosas y transformación de rugosa a lisa en una bacteria ácidorresistente.

Colonias secundarias o hijas. Después de una incubación relativamente prolongada puede aparecer un crecimiento secundario en los bordes o sobre la superficie de las colonias. Estas nuevas colonias, llamadas colonias hijas, se forman por multiplicación de células, con frecuencia algo diferentes de las células que produjeron la colonia original. Estas células difieren en mayor o menor grado de sus probables antecesoras y son una prueba de variación dentro de una especie. En la figura 17 *D* se muestran colonias hijas de vibrión del cólera.

* S, inicial de la palabra inglesa *smooth* (liso), y R, inicial de la palabra inglesa *rough* (rugoso o áspero). (N. del T.)

Placas. En ocasiones las colonias pueden tener aspecto apolillado o contener puntos claros o zonas circulares claras. Suele ser manifestación de un proceso lítico que ocurre en la colonia; con frecuencia indica la presencia de un bacteriófago.

Organización de una colonia. Por lo general se entiende que las células que componen una colonia bacteriana son fisiológicamente independientes. Esto puede ser cierto en cuanto a la continuidad estructural se refiere, pero probablemente es inexacto por el hecho de que las células en diferentes partes de una colonia están sujetas a diferencias en el medio creadas por el crecimiento de las células vecinas. Estas diferencias, sin duda, ejercen cierta acción sobre los organismos. Además, las células en contacto directo con el medio tienen un suministro de alimento diferente del de aquellas que crecen en la superficie o en el borde de la colonia. Estas relaciones ordinariamente se destruyen al examinar los organismos tomándolos de una colonia con un asa de platino. Se han hecho estudios *histológicos* por medio de cortes de colonias fijadas *in situ*. La descripción principal de la organización de colonias en el caso de vibrión del cólera ha sido publicada por Legroux y Magrou. Estudios similares con colonias de bacilo tuberculoso hechos por Kahn, y de colonias de diversas bacterias por Mackenzie, indican que tienen cierta organización y que existen diferentes formas de microorganismos en las diferentes partes de cada colonia.

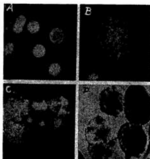


FIG. 17. TIPOS DE COLONIAS BACTERIANAS.

A. Lisa. *B.* Rugosa. *C.* Colonias lisas desarrollándose a partir de rugosas. *A, B* y *C* son de un cultivo de bacteria ácidorresistente. *D.* Colonias de vibrión del cólera con colonias hijas secundarias. (Según Eisenberg.)

BIBLIOGRAFIA

BABES, V. *Ztschr. f. Hyg.*, 1889, 5:172.
BARNARD, J. E. *System of Bacteriology*, London, 1930, 1:116, Plates I and II.
BAYNE-JONES, S., and PETRILLI, A. *J. Bacteriol.*, 1933, 25:261.
BROADHURST, J. *J. Bacteriol.*, 1933, 25:32; 1934, 27:28.
BOVARNICK, M. *J. Biol. Chem.*, 1942, 145:415.
CHURCHMAN, J. W. *J. Exper. M.*, 1927, 4:46.
CONN, H. J., and ELROD, R. P. *J. Bacteriol.*, 1947, 54:681.
COOK, R. P. *Biol. Reviews*, 1932, 7:1-23.
DUBOS, R. J. *The Bacterial Cell*, Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 1946.
DUBOS, R. J., and AVERY, O. T. *J. Exper. Med.*, 1931, 54:51.
ENDERLEIN, G. *Bakterien-Cyclogenie*, Leipzig, 1925.
ERNST, P. *Ztschr. f. Hyg.*, 1888, 4:25.
GARDNER, A. D. *J. Path. & Bacteriol.*, 1925, 28:189.
GRAHAM-SMITH, G. S. *Parasitology*, 1910, 3:17.
GRIMME, VON, A. *Z. f. Bakt.*, 1902, 32:1.
GUTSTEIN, M. *Centr. f. Bakt.*, 1924, 93:233; 1924, 93:393; 1925, 94:145.
HADLEY, P., DELVES, E., and KLIMEK, J. *J. Infect. Dis.*, 1931, 48:1.
HENRICI, A. T. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1924, 22:197.
HEUCKE, R., and HENNEBERG, W. *Zentr. Bakt. Parasitenk.*, 1934, 90:425.
HILL, H. W. *J. Med. Research*, 1902, 2:115.
HISS, P. *J. Exper. M.*, 1905, 6:316.

HOLLANDE, A. C. *Arch. Protistenk.*, 1934, 83:465.
HORT, E. C. *Proc. Roy. Soc., Lond.*, B., 1917, 89:468.
——— *J. Hyg.*, 1920, 18:361-369.
JOHNSON, F. H., ZWORYKIN, N., and WARREN, G. *J. Bacteriol.*, 1943, 46:167.
KAHN, M. *Am. Rev. Tuberc.*, 1929, 20:150.
KNAYSI, G. *J. Bacteriol.*, 1930, 19:113; 1942, 43:365; 1943, 46:451.
——— *Botanical Rev.*, 1938, 4:83.
——— and MUDD, S. *J. Bacteriol.*, 1943, 45:349.
——— *Elements of Bacterial Cytology*, Comstock Publishing Co., Ithaca, N. Y., 1944.
——— and BAKER, R. F. *J. Bacteriol.*, 1947, 53:539.
———, BAKER, R. F., and HILLIER, J. *J. Bacteriol.*, 1947, 53:525.
KRAUSE, F. *Naturwiss.*, 1937, 25:817.
LEGROUX, R., and MAGROU, J. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1920, 34:417.
LEWIS, I. M. *Bacteriol. Rev.*, 1941, 5:181.
LINDEGREN, C. C. *Zentr. Bakt. Parasitenk.*, 1935, 92:40.
LÖHNIS, F., and SMITH, N. R. *J. Agric. Research*, 1916, 6:675.
——— *Studies upon the Life Cycle of the Bacteria*, Memoirs of the National Academy of Sciences, Washington, 1922, 16:2nd mem.
LURIA, S. E. *Bacteriol. Rev.*, 1947, 11:1.
MARTON, L. *Bull Acad. Belg.*, Classe des Sci., 1937, 23:672.
MELLON, R. R. *Am. Rev. Tuberc.*, 1929, 19:483.
——— *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1932, 30:110.
MESSEA, A. *Riv. d'ig. e. san. pubb.*, 1890, 1:513.
MEYER, A. *Die zelle der bakterien*, Jena, Gustave Fischer, 1912, 1:368.
MUDD, S., POLEVITSKY, K., and ANDERSON, T. F. *J. Bacteriol.*, 1943, 46:15.
——— and WIENER, M. *J. Immunol.*, 1942, 45:21.
——— and ANDERSON, T. F. *J. Immunol.*, 1941, 42:251.
——— HEINMETS, F., and ANDERSON, T. F. *J. Bacteriol.*, 1943, 46:205.
——— *J. Exper. M.*, 1943, 78:327.
NEUMANN, F. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt., 1925, 96:250: 1928, 109:143.
PAINTER, T. S., and TAYLOR, A. N. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1942, 28:311.
PIEKARSKI, G., and RUSKA, H. *Arch. f. Mikr.*, 1939, 10:302.
PIJPER, A. *J. Path. & Bacteriol.*, 1938, 47:1; 1946, 58:325.
——— *J. Bacteriol.*, 1947, 53:257.
POTTHOFF, H. *Centralbl. f. Bakteriol.*, II Abt., 1924, 61:249.
ROBINOW, C. F. *J. Hyg. Camb.*, 1944, 43:413.
——— Chapter in Dubos' *The Bacterial Cell*, Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass., 1946.
SCHAUDINN, F. *Archiv f. Protistenk.*, 1902, 1:306.
TATUM, E. L., and LEDERBERG, J. *J. Bacteriol.*, 1947, 53:673.
THORNTON, H. C., and GANGULEE, N. *Proc. Roy. Soc.*, Lond., B., 1926, 99:427.
VON BORRIES, B., RUSKA, E., and RUSKA, H. *Wiss. Veröffentlichungen a.d. Siemens-Werken*, 1933. 17:99, 107.
WALKER, E. W. A., and MURRAY, W. *Brit. M. J.*, 1904, 2:16.
WYCKOFF, R. W. G. *Science*, 1932, 76:240.
——— *J. Exper. M.*, 1934. 59:381.
WYCKOFF, R. W. G., and TER LOUW, A. *J. Exper. M.*, 1931, 54:449.
ZETTNOW. *Ztschr. f. Hyg.*, 1897, 24:72 and 1918, 85:17.
ZINSSER, H. *J. Exper. M.*, 1906, 8:542.

CAPITULO III

NUTRICION DE LAS BACTERIAS

Los problemas de la nutrición están íntimamente relacionados con los de fisiología celular, incluyendo el suministro de materiales a la célula para su propio mantenimiento y reproducción. En el caso de organismos multicelulares, compuestos de una variedad de tejidos especializados, este aspecto fundamental del problema se obscurece, porque los requerimientos nutritivos sólo pueden ser determinados para el organismo como un todo, lo que significa que los requerimientos para todos los tipos de células deben ser examinados en conjunto. Nuevas investigaciones, sin embargo, tienden a descubrir las propiedades celulares particulares y hacen del estudio de la nutrición, en sus aplicaciones clínicas y diarias, un ejercicio complicado de Fisiología y Bioquímica. La historia de los estudios del metabolismo del hierro y del yodo ilustra este punto. En el caso de las bacterias el problema se simplifica grandemente, porque los organismos son unicelulares, se multiplican en enorme proporción y pueden desarrollarse en medios sintéticos; así se explica que los problemas de la nutrición y los del metabolismo celular se hayan estudiado juntos y hayan avanzado simultáneamente.

Los requerimientos alimenticios de una especie particular de bacteria se pueden considerar como reflejo de su fisiologia y su bioquímica; reflejo, por decirlo así, en el espejo de un medio adecuado para el desarrollo. Dentro de ciertos límites, todas las bacterias tienen requerimientos nutritivos comunes que se pueden considerar como reflejos de mecanismos fisiológicos y bioquímicos iguales. De hecho muchos requerimientos bacterianos son iguales a los de los animales superiores, incluyendo el hombre, así que la información obtenida para uno de ellos ha resultado muy útil para ambos. Este punto importante se puede ilustrar con los estudios de las *coenzimas*.

Es bien sabido que el ácido nicotínico (o su amida) es la vitamina cuya deficiencia es responsable de la pelagra y cuyo único papel metabólico conocido estriba en servir como parte de las coenzimas, di y trifosfopiridinanucleótidos, de gran importancia en la respiración celular. Que el ácido nicotínico es parte de las coenzimas fué demostrado por Warburg y sus colaboradores (1935), quienes, trabajando primero con un extracto de eritrocitos, pronto confirmaron los resultados con preparaciones similares de levadura. La levadura, ha sido tiempo atrás el material clásico del cual fueron obtenidas por vez primera las coenzimas y con el cual solían prepararse.

Disponiendo de esta información, Lwoff y Lwoff (1937) volvieron a investigar la naturaleza del factor V, necesario para el desarrollo de especies de *Hemophilus* y encontraron que podía ser substituído por alguna de las coenzimas. Además, demostraron por primera vez en el organismo vivo (lo que previamente ya se había supuesto) que la oxidación del azúcar o su fermentación anaerobia dependen casi por completo de la presencia de estas coenzimas. Así, si las bacterias quedaran desprovistas de sus coenzimas disminuiría en 90 a 95 por ciento el metabolismo de la glucosa, y esta actividad metabólica podría ser restaurada en dos

minutos por la adición de coenzima. Este es uno de los experimentos fundamentales del metabolismo celular.

Dos años después del descubrimiento de Warburg, Elvehjem, Madden, Strong y Wooley (1937) demostraron que el ácido nicotínico podía curar la pelagra de los perros; inmediatamente después aparecieron publicaciones acerca de las curaciones de la pelagra en el hombre por administración de ácido nicotínico (Fouts y col., 1937; Smith y col., 1937; Spies y col., 1938). En el mismo año también se descubrió que el ácido nicotínico es una vitamina para los estafilococos (Knight, 1937), el bacilo diftérico (Mueller, 1937) y *Proteus*.

Los experimentos en animales estimularon inmediatamente el interés por determinar las concentraciones de ácido nicotínico y coenzima en sangre y tejidos. Como no se disponía de métodos químicos sencillos, se crearon los ensayos microbiológicos para las coenzimas usando *Hemophilus* (Kohn, 1938; Vilter y col., 1939) y para el ácido nicotínico, utilizando *Proteus* (Lwoff y Querido, 1938).

Este "caso de las coenzimas" era aplicable a varios géneros de bacterias, a la levadura, al perro y al hombre, todos los cuales tenían puntos de similitud fundamentales en sus requerimientos nutritivos y, por lo tanto, en su metabolismo intermedio. Las investigaciones con cada una de las especies resultaron beneficiosas para las demás.

El ejemplo antedicho no es aislado; el aminoácido metionina, fué descubierto por Mueller al completar su análisis de un factor desconocido de crecimiento para el bacilo diftérico. El punto importante es que ciertos mecanismos y pautas se encuentran repetidamente y que el conocimiento obtenido del estudio de una clase biológica resulta muy útil en el análisis de otras. En la exposición que sigue se supone que el estudiante empleará su texto de Bioquímica de los mamíferos y las notas de clase para referencia y definición.

La teoría básica de la nutrición es presentada de preferencia desde dos puntos de vista: el *termodinámico* y el *químico*. La función real de toda célula supone trabajo, el cual, a su vez, requiere gasto de energía.

Base termodinámica de la nutrición. Los problemas fundamentales que incluye se ilustran por el sencillo experimento siguiente: Se prepara un medio que permita el desarrollo de una especie particular de bacteria y se siembra con unos pocos microorganismos. Después de la incubación, durante veinticuatro horas, el número de organismos ha aumentado unos millones de veces y una parte del medio se ha convertido en protoplasma bacteriano. El análisis detallado demostraría también que parte del medio se ha convertido en substancias que se acumularon en el medio mismo, y que otros constituyentes, como la glucosa, habían sido oxidados hasta ácidos acético y fórmico o incluso anhídrido carbónico y agua. Según la ley de conservación de la masa, aplicable aquí como en cualquier parte, la masa total (si la incubación tiene lugar en vaso cerrado) permanece inalterada. Así, el número total y las clases de átomos permanecen los mismos, pero su distribución, en términos de especies moleculares, cambia. En el ejemplo presente, se sintetizó protoplasma, proceso que implica trabajo y gasto de energía; los glúcidos fueron degradados, proceso que libera energía. La liberación de energía en una máquina química permite que el trabajo sea hecho; la célula bacteriana se puede considerar como una máquina química que utiliza para la síntesis de su propio protoplasma la energía liberada por la degradación enzimática de ciertas moléculas, tales como la glucosa.

El concepto de la célula bacteriana como máquina química ha sido examinado experimentalmente y los resultados han estado de acuerdo con la teoría. Durante

el desarrollo de un cultivo, el contenido de energía del medio disminuye, como se puede demostrar por medición en la bomba calorimétrica, y esta pérdida puede ser explicada por el calor desarrollado y por el contenido de energía de las bacterias que se han producido.

Base química de la nutrición. Desde el punto de vista químico, el medio, que es una colección de compuestos, se convierte en protoplasma, colección más compleja todavía de compuestos, con producción concomitante de diversos productos metabólicos. Un análisis grosero de la célula bacteriana proporciona cierta información sobre cuáles son los compuestos que deben estar presentes en el medio.

La composición elemental de las bacterias varía con la especie y, dentro de la misma especie, según las condiciones de cultivo. En general, el contenido de agua de las bacterias es de 75 a 85 por ciento del peso total; en la levadura es alrededor del 75 por ciento y en los hongos de un 85 por ciento. Las esporas bacterianas tienen con frecuencia 10 a 20 por ciento menos de agua que las formas vegetativas. El análisis elemental de las bacterias, en relación con su peso seco, es aproximadamente como sigue: carbón, 45 a 55 por ciento; nitrógeno, 7 a 13 por ciento; cenizas, 3 a 11 por ciento, de las cuales el fósforo constituye de un tercio a la mitad. El contenido de proteína, estimado groseramente según los valores de nitrógeno, viene a ser el 50 por ciento del peso seco. El contenido de grasa varía desde menos del 1 por ciento a más del 35 por ciento (en el género *Mycobacterium)*, pero generalmente es menor del 8 por ciento del peso seco. En algunos hongos es algo superior al 20 por ciento. El contenido de glúcidos varía desde 10 a 25 por ciento en las bacterias, en las levaduras del 25 al 60 y en los hongos del 8 al 40.

Que las cifras de variabilidad dadas para los diversos constituyentes no son exageradas lo ilustran los datos de Dawson (1919), quien analizó *E. coli* sembrado en diversos medios. Encontró que el contenido en agua variaba del 60 al 80 por ciento; las cenizas, del 2 al 8 por ciento; los glúcidos, del 1 al 4 por ciento y las grasas, del 4 al 8 por ciento del peso húmedo.

Tales análisis groseros proporcionan una orientación general acerca del problema de la nutrición bacteriana. Ejemplo: las proteínas están constituídas por carbono, hidrógeno, nitrógeno, azufre y oxígeno; por lo tanto, estos elementos deben estar presentes en proporción adecuada. El problema, sin embargo, consiste en determinar las respuestas a cuestiones tales como las siguientes: ¿qué es lo que constituye un suministro adecuado?; el oxígeno, ¿debe suministrarse como gas, como ion hidroxilo o como grupo carbinol?; el azufre, ¿deberá ser utilizable en su forma elemental, como sulfato o como cisteína? Estas cuestiones químicas no pueden responderse sin más, sino que deben resolverse en cada caso por experimentación. Los resultados muestran un tremendo número de variaciones, pero felizmente caen dentro de un número relativamente reducido de moldes básicos.

Antes de referirnos a estos patrones nutritivos puede ser útil considerar su posible significación. La mutación y la selección natural actúan en las bacterias como en cualquier parte; en último análisis podían ser responsables del gran número de variedades observadas. No obstante, mucho se puede aprender del estudio de un patrón determinado, porque es obvio que los requerimientos nutritivos deben fijar el medio en el cual el organismo puede vivir. A medida que los requerimientos nutritivos de un organismo se hacen más precisos, las posibilidades de hallarlo en medio *saludable* resultan menores y el parasitismo llega a ser obligatorio por los requerimientos químicos específicos, mucho más allá de lo que sólo se refiere a los requerimientos mecánicos para la existencia. El bacilo de la influenza, que requiere hematina como vitamina para poder llevar una existencia aerobia, sólo puede por tanto,

parasitar los animales que contienen este pigmento. Los requerimientos nutritivos permiten también ciertas deducciones en lo que concierne a los sistemas de enzimas que faltan al organismo. El bacilo de la influenza requiere hematina, porque no puede sintetizarla. El reconocimiento de tales deficiencias de enzimas específicas ha sido útil para la investigación bioquímica, porque permite descubrir ciertos pasos metabólicos intermedios que de otra manera no serían accesibles. El organismo adaptable puede hacer casi todo, porque posee todas las enzimas y puede resolver todos los pasos intermediarios. El organismo exigente, que ha perdido algunas enzimas, ha suprimido también los pasos que de ellas dependen. En este sentido, por decirlo así, resultan parcialmente amputados para el bioquímico.

Trabajos recientes han demostrado que los sistemas de enzimas pueden sufrir variaciones dentro y fuera del microorganismo. Así, por ejemplo, los rayos X pueden inducirlas con pérdidas o ganancias en cuanto a requerimientos nutritivos; también se han observado mutaciones espontáneas (Lwoff, 1946). Tales diferencias en la constitución genética, en su mayor parte, originan los mejores caracteres particulares disponibles para estudiar la herencia bacteriana, ya que los morfológicos son muy limitados.

Nutrición de E. coli. Este organismo ha sido seleccionado para ilustrar el tipo de datos experimentales que se pueden obtener de los estudios de nutrición. Las substancias que existen en los medios deberán ser catalogadas, primero, desde el punto de vista termodinámico para ilustrar cómo el medio provee a los mecanismos productores de energía, y, segundo, en relación con el punto de vista químico para ilustrar cómo el medio refleja las variadas capacidades de síntesis de la especie.

En un principio se descubrió empíricamente que las bacterias podían desarrollarse, en ciertos medios mal definidos, como caldo de carne. Trabajos posteriores descubrieron que se podía obtener mejor desarrollo con productos a base de carne digerida, como el caldo con peptona. En el caso de *E. coli*, desarrollado en caldo con peptona, se ensayó el efecto de añadir glúcidos. Se encontró, por ejemplo, que la glucosa aumentaba la rapidez del desarrollo y el subsiguiente análisis químico del medio demostró la presencia de diversos productos metabólicos, como los ácidos fórmico y acético, y anhídrido carbónico. Se encontró también que la incubación de los cultivos en presencia de glucosa, pero en ausencia de peptona, daba lugar a un catabolismo activo de la glucosa, sin desarrollo. Como la peptona era evidentemente esencial para el crecimiento, debía contener alguna substancia que faltaba en la glucosa, probablemente nitrógeno; sin embargo, el nitrógeno suministrado en forma de gas no promovía el desarrollo, pero sí lo aceleraba la adición de este elemento en forma de amoníaco. Los experimentos demostraron que la glucosa podía ser catabolizada para suministrar la energía y que los aminoácidos y proteínas podían ser sintetizados si se disponía de amoníaco. La presencia de aminoácidos o peptona en el medio de cultivo evita al organismo el trabajo de sintetizarlos y da lugar a un desarrollo más rápido.

Por ejemplo, una raza de *E. coli* requiere 18 horas a 37° C. para producir un desarrollo visible, si se sembraron unos 150 organismos en 8 c.c. de medio que sólo contenga sales inorgánicas, incluyendo amoníaco y glucosa. La adición del aminoácido tirosina reduce el tiempo requerido a 15 horas; la adición de una mezcla de tirosina, cistina y ácido glutámico lo reduce a 12 y ½ horas. La adición de 21 aminoácidos naturales reduce el tiempo a 12 horas. Por otra parte, la adición de proteosa y peptona lo reduce a 8 horas. Evidentemente, la adición de aminoácidos puede acortar el tiempo, al igual que otras substancias, como los polipép-

tidos u otros constituyentes desconocidos de la peptona. Sin embargo, la peptona por sí misma no proporciona la máxima velocidad de desarrollo; se requiere glucosa.

Los experimentos que acabamos de describir pueden resumirse como sigue:

1. La energía suministrada deriva de la oxidación de glúcidos o de ácidos grasos (presentes como tales o derivados de la peptona).
2. Con glucosa, amoníaco, sulfatos y fosfatos el microorganismo puede producir todas sus estructuras químicas orgánicas.

La variedad de *E. coli* en estudio tiene, por tanto, capacidades notables de síntesis y puede contener gran variedad de sistemas de enzimas, a pesar de su pequeño volumen (alrededor de un micra cúbica). Sin embargo, su capacidad de adaptación no es la mayor que se encuentra en la Naturaleza. Cualquier planta verde, por ejemplo, puede realizar algo que el colibacilo no puede lograr, a saber: la síntesis de la glucosa a partir de anhídrido carbónico y agua, en presencia de luz como fuente de energía. Las plantas verdes, por tanto, toman su energía del sol, mientras que *E. coli*, las plantas sin pigmento y los animales deben, por uno u otro mecanismo, obtener su energía de la actividad sintética de las plantas verdes. En segundo lugar, *E. coli* no puede hacer uso del gas nitrógeno, que constituye el 80 por ciento de la atmósfera; pero sí pueden utilizarlo los miembros de los géneros *Rhizobium* (bacterias simbióticas de los nódulos radiculares de algunas plantas) y *Azotobacter* (bacterias no simbióticas).

Tipos de nutrición bacteriana. Los esquemas de nutrición bacteriana pueden ser descritos según las características: 1) el mecanismo de suministro de energía, y 2) la necesidad de factores de desarrollo, lo cual constituye una medida de la capacidad sintética del organismo. Seguiremos la reciente revisión de terminología según Van Niel (1946) para describir los diversos tipos.

I. Nomenclatura basada en las fuentes de energía.
   A. Fototrofia. Energía derivada primariamente de una reacción fotoquímica, como en el caso de las plantas verdes.
   B. Quimotrofia. Energía derivada primariamente de la oxidación de substratos inorgánicos u orgánicos, como en el caso del hombre.
   C. Paratrofia. Energía derivada probablemente de la célula huésped, como en el caso de los virus.

II. Nomenclatura basada en las capacidades sintéticas.
   A. Autotrofia. No son necesarios ni vitaminas, ni aminoácidos esenciales, ni factores específicos de desarrollo, como en el caso de ciertas bacterias.
   B. Heterotrofia. Se requiere un número variable de factores de desarrollo como en el caso del hombre, animales, diversas plantas y bacterias.
   C. Hipotrofia. La relación entre parásito y huésped es tan íntima que el parásito, en realidad no tiene sistema nutritivo propio, como en el caso de los virus.

Los diversos tipos enumerados se ilustran con los ejemplos dados en la tabla que acompaña, después de subrayar los puntos siguientes: Primero, la terminología distingue entre factores de desarrollo y substratos. Así, la glucosa no es factor de desarrollo en el sentido empleado aquí, pero la riboflavina sí lo es. La diferencia estriba en que los factores de desarrollo son metabolitos esenciales o substratos que tienen funciones específicas en las actividades sintéticas de los organismos; no

sirven simplemente como fuentes de energía. En general, hay dos clases de factores de desarrollo. La primera juega el papel de agente catalítico, y por lo tanto, no se requiere sino en cantidades mínimas, por ejemplo, la coenzima I para *Homophilus* al 0,000 000 000 2 g por c.c. (según Lwoff y Lwoff, 1937) o la biotina al 0,000 000 000 000 1 g por c.c. (Wilson y Wilson, 1942). El segundo tipo juega un papel estructural y es necesario en cantidades relativamente grandes, por ejemplo, los aminoácidos para *Diplococcus pneumoniae*. En el hombre, los factores de desarrollo del primer tipo son las llamadas vitaminas; las del segundo tipo, los aminoácidos esenciales. Una lista parcial incluye la biotina, el ácido pantoténico, betaalanina, tiamina, ácido nicotínico, piridoxina, riboflavina, ácido p-aminobenzoico, colina, glutamina, ácido pimélico, ácido fólico y vitamina K. Para información detallada acerca de los diversos factores de desarrollo, consúltese la bibliografía al final de este capítulo.

FORMAS DE NUTRICIÓN

ORGANISMO	*Chlorella pyrenoidosa*	*Rhodopseudomonas palustris*	*Gallionella ferruginea*	*Azotobacter sp.*	*Escherichia coli*	*Mycobacterium tuberculosis var. hominis*	*Diplococcus pneumoniae*	VIRUS DEL SARAMPIÓN
Fuente de energía	Reducción por la luz	Reducción por la luz	Oxidación inorgánica	Oxidación orgánica	Oxidación orgánica	Oxidación orgánica	Oxidación orgánica	?
Fuente de carbono	CO_2	CO_2 y etanol	CO_2	Glucosa	Glucosa	Glicerol	Glucosa	?
Requerimiento de nitrógeno	Nitrato o amoníaco	Orgánico	?	N_2 o NH_3 o NO_3	Variable	Asparragina	Aminoácidos	?
Vitaminas	Ninguna	No especificadas todavía	?	Ninguna	Ninguna	Varias	Diversas	?
Tipo	Fototrófico, autotrófico	Fototrófico, heterotrófico	Quimiotrófico, heterotrófico	Quimiotrófico, autotrófico	Quimiotrófico, auto o heterotrófico	Quimiotrófico, heterotrófico	Quimiotrófico, heterotrófico	Paratrófico, hipotrófico

El cuadro se refiere a ocho especies con el fin de ilustrar los tipos principales de nutrición bacteriana. Los organismos han sido dispuestos de izquierda a derecha, con el fin de formar una especie de escala; para comparación, cada línea debe ser leída de izquierda a derecha.

Los párrafos siguientes tratan de las especies anotadas en la tabla. Para más detalles debe consultarse la revisión de Knight (1945) o la de Porter (1946).

Chlorella pyrenoidosa no es una bacteria, sino un alga verde unicelular, que se incluye en la tabla para comparación. Por su clorofila es capaz de producir glúcidos a base del anhídrido carbónico y del agua; la energía para la síntesis proviene de la absorción de luz solar. Esta pequeña planta, por tanto, es fototrópica. Los glúcidos son almacenados y subsiguientemente oxidados según las necesidades. La energía para la síntesis del protoplasma de *Chlorella* deriva de la oxidación, como sucede con las diversas bacterias quimiotróficas, pero las últimas dependen de las fuentes externas, del substrato, a diferencia de *Chlorella*, que manufactura su propia energía. *Chlorella* puede utilizar el amoníaco o los nitratos como fuente de nitrógeno y no necesita vitaminas. Representa, por tanto, el máximo de capacidad sintética y es autotrófica. El término combinado resultaría, pues, fotoautotrófica.

En el extremo opuesto de la escala está el virus del sarampión, el cual tiene tan poca aptitud bioquímica que sólo puede desarrollarse dentro de las células de su huésped específico. Su suministro de energía es paratrófico y su capacidad sintética es hipotrófica.

Las seis especies restantes incluyen tres bacterias saprófitas y tres patógenas. *Rhodopseudomonas palustris* es una bacteria fotosintética purpúrea fotoheterotrófica. Además de anhídrido carbónico requiere una fuente de carbón como el ácido glutámico o el etanol. Por añadidura, su desarrollo es pobre en medio inorgánico (más etanol) a menos que se le añada extracto de levadura.

Gallionella ferruginea obtiene su energía de la oxidación de sales de hierro (ferrosas o férricas); por tanto, es quimiotrófica, pero del tipo inorgánico, relativamente raro. Sus otros requerimientos nutritivos no se conocen con precisión.

Azotobacter es un género cuyos miembros son quimiotróficos; obtienen energía de la oxidación de substancias como glucosa y manitol. Tiene la propiedad notable de utilizar el nitrógeno de la atmósfera. Como no requiere vitaminas, es autotrófico.

Escherichia coli, habitante del colon normal, es escasamente patógeno. Todas las razas son quimiotróficas, pero varían en su capacidad para usar los componentes de los medios simples. Con frecuencia el amoníaco es fuente adecuada de nitrógeno; casi nunca requieren factores accesorios.

Mycobacterium tuberculosis, tipo humano, varía en sus requerimientos. Recién aislado del hombre, el desarrollo es pobre o imposible a menos que se añada al medio un material complejo, como yema de huevo. En los subcultivos crece bien sobre sales inorgánicas, con asparragina como fuente de nitrógeno y glicerol. Por tanto, llega a ser más bien un tipo simple de heterotrófico.

Diplococcus pneumoniae es un ejemplo de tipo muy exigente de organismo quimioheterotrófico; se clasifica, en este respecto, con los del género *Clostridium* y los estreptococos hemolíticos. Requiere cierto número de aminoácidos; éstos varían según el tipo específico de neumococo. Además, requiere biotina, colina y ácidos nicotínico y pantoténico.

Requerimientos inorgánicos. Hasta aquí, se ha tratado ampliamente de cuerpos como agua, anhídrido carbónico, glucosa, amoníaco y aminoácidos, compuestos de los elementos carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. También se requieren otros elementos, de los cuales el fósforo y el azufre son quizá los más importantes. El azufre es un constituyente de los aminoácidos cisteína y metionina; el fósforo, como fosfato, forma muchos ésteres esenciales en el metabolismo de los glúcidos. Se ha demostrado que, en una u otra forma, tienen posible significación unos cincuenta elementos, pero, en general, debe decirse que nuestro conocimiento es escaso y que probablemente queda mucho por aprender.

Las principales dificultades al progreso en este campo son de naturaleza técnica. Diversos elementos se hallan en las bacterias en concentraciones tan pequeñas como uno por un millón, y resulta difícil su aislamiento y análisis cuantitativo. Pero una relación de los elementos presentes en las bacterias nada prueba, puesto que muchos de ellos quizá penetren en la célula por hallarse presentes en el medio y porque la célula no es impermeable. El único tipo de prueba definitiva procede de los experimentos que demuestran que una función particular, como desarrollo, producción de toxina o actividad enzimática, puede resultar de intensidad proporcional a la concentración del elemento particular en el medio.

En todos los respectos cabe suponer que las substancias inorgánicas desempeñan tres principales papeles: 1) El mantenimiento de un estado coloidal adecuado y

de la presión osmótica. Ello hace posible la función adecuada de las membranas celulares; las diversas proteínas celulares se estabilizan como compuestos solubles o insolubles según se requiera. 2) El mantenimiento del equilibrio ácidobásico. Esta función, no tan crítica como en los mamíferos, debe existir en los microorganismos. 3) Funcionan como coenzimas o en relación con ellas. No hay duda de que los elementos hierro, cobre, cinc, manganeso, magnesio, calcio y cloro caen dentro de este grupo. La lista completa de los elementos requeridos por cada bacteria no es conocida. Los apartados 1) y 2), claro está, son especialmente difíciles de estudiar. Los mejores ejemplos están en el 3); los han hecho posibles los notables adelantos de la química enzimática en los últimos veinticinco años.

Como no podemos estudiar los requerimientos minerales completos de ningún organismo, daremos varios ejemplos de cómo un metal particular, el hierro, puede actuar en diferentes especies. En el caso de las llamadas bacterias ferruginosas, de las cuales *Gallionella ferruginea* se halla en la tabla, el hierro es el substrato de oxidación que suministra la energía por un mecanismo análogo al de la glucosa. Su papel no es catalítico y, por supuesto, requerirá cantidades relativamente grandes de hierro, que han de tener una significación cuantitativa en la energética del organismo.

Por otra parte, se requieren mínimas cantidades de hierro en los medios de cultivo para permitir la síntesis de los grupos prostéticos de diversas enzimas oxidativas. Esto se ilustra con toda claridad en *Aerobacter indologenes*, como han observado Waring y Werkman (1944). La producción de bacterias es proporcional a la concentración de hierro del medio, en proporciones que varían desde 0 a 0,025 por un millón. Las concentraciones mayores no aumentan dicha producción. Cuando se emplean concentraciones mínimas, el desarrollo es lento y se producen bacterias de color de yeso en lugar del color cremoso obscuro normal. No hay las bandas de citocromo y la capacidad de oxidar los ácidos pirúvico y fórmico está muy disminuída. Los sistemas catalasa y peroxidasa tienen menos del 5 por ciento de su actividad normal.

En el caso del bacilo diftérico, la falta de hierro origina igualmente un desarrollo más pobre y células pálidas, según la revisión de Pappenheimer (1947). Además del desarrollo, la producción de catalasa y la oxidación de succinatos son proporcionales a la concentración de hierro en el medio, con márgenes que varían de 0 a 0,5 por un millón. En este caso, sin embargo, aparece un nuevo factor, pues a medida que disminuye la concentración de hierro, aumenta la producción de toxina diftérica, y ésta es nula cuando aquélla es igual o superior a 0,5 partes por un millón. La máxima producción se alcanza cuando la concentración de hierro es igual a cero. Pappenheimer se pregunta si la toxina es la mitad proteínica del citocromo B, que pasa libremente al medio por falta de su grupo prostético como resultado de la deficiencia de hierro.

Composición de los medios. Las teorías y los hechos que anteceden encuentran expresión en cierto número de procedimientos prácticos, como encauzamiento de las fermentaciones industriales, la creación de métodos de ensayo microbiológico y la preparación de medios para el aislamiento e identificación de bacterias patógenas. Para este último propósito se emplea un cúmulo abrumador de técnicas, o por lo menos, tal parece al estudiante cuando establece los primeros contactos con ellos. Sin embargo, la aplicación de los principios antedichos demostrará la lógica, por lo menos de modo general, de lo que en otra forma parecerían las más arbitrarias y empíricas de las prescripciones. A modo de resumen, consideraremos un ejemplo sencillo.

La composición de un medio para cualquier organismo debe satisfacer las siguientes condiciones:

1) Suministro de energía.
2) Suministro de nitrógeno.
3) Suministro de carbono.
4) Suministro inorgánico (azufre, fósforo y otros).
5) Factores de desarrollo: *a)* vitaminas; *b)* aminoácidos esenciales; *c)* otros.
6) Tensión de oxígeno.
7) Tensión de anhídrico carbónico.
8) pH y su regulación.
9) Inhibidores y antiinhibidores.

Los pasos seguidos para satisfacer estos diversos requerimientos dependerán del objetivo que se persiga: propósitos de identificación, aislamiento de un cultivo mezclado o, simplemente, para obtener un desarrollo abundante.

Consideremos un medio compuesto como sigue:

1 litro de H_2O
2 gramos de glucosa
2 gramos de PO_4 H_2K
2 gramos de $PO_4H(NH_4)_2$
4 gramos de ClNa y 0,2 gramos de $SO_4Mg.7H_2O$
pH ajustado a 7,2 por adición de pequeña cantidad de NaOH.

Ciertas cepas de *E. coli* se desarrollan rápidamente en este medio. La glucosa suministra energía (por oxidación) y carbono, y el amoníaco proporciona nitrógeno. Los requerimientos inorgánicos quedan satisfechos por las sales añadidas al medio, que incluyen K, P, Mg, S, Na, y Cl, con indicios de otros elementos incluídos como impurezas en las sales comerciales usadas o en el agua corriente. Las grandes cantidades de fosfatos potásico y amónico empleadas sirven como tampón. No contiene factores de desarrollo. El oxígeno se suministra por difusión en el medio desde su superficie. En este caso, la tensión del anhídrido carbónico no es importante, si bien en el de otras especies se hacen necesarias provisiones especiales para ello. La mayor parte de los organismos pueden utilizar el anhídrido carbónico para convertir ciertos ácidos monocarboxílicos en dicarboxílicos, como en las ramificaciones del ciclo del ácido cítrico, y para algunos la tensión de anhídrido carbónico necesaria para el desarrollo es apreciable. Si las bacterias fueran fotosintéticas, se necesitaría anhídrido carbónico para el proceso correspondiente. El medio deberá ser modificado en las siguientes circunstancias:

Para obtener desarrollo más rápido y mayor producción de *E. coli*, añadir 10 g de peptona-proteosa (una peptona comercial).

Para diferenciar el grupo *aerogenes*, substituir la glucosa por citrato, no utilizado por *E. coli*.

Para aislar bacterias de la orina de un paciente tratado con sulfonamidas, añadir 0,1 g de ácido p-aminobenzoico, el cual contrarrestará al bacteriostático.

BIBLIOGRAFIA

Annual Review of Microbiology, 1947, 1. Esta publicación anual revisa la investigación de cada año en una serie de capítulos escritos por varios especialistas. Algunos capítulos están dedicados a la nutrición bacteriana.
DAWSON, A. I. *J. Bact.*, 1919, 4:133.

ELVEHJEM, C. A., MADDEN, R. J., STRONG, F. M., and WOOLEY, D. W. *J. Am. Chem. Soc.*, 1937, 59:1767.
FOUTS, P. J., HELNER, O. M., LEPKOVSKY, S., and JUKES, R. H. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1937, 37:404.
KNIGHT, B. C. J. G. *Biochem. J.*, 1937, 31:731.
———. *Vitamins and Hormones*, 1945, 3:105.
KOHN, H. I. *Biochem. J.*, 1938, 32:2075.
LWOFF, A. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, 1946, 6:139.
LWOFF, A., and LWOFF, M. *Proc. Roy. Soc.*, 1937, 122:352-359.
LWOFF, A., and QUERIDO, A. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 1938 and 1939, 129:1039.
MUELLER, J. H. *J. Bact.*, 1937, 34:429.
PAPPENHEIMER, A. M. Bacterial Toxins, 1947, *Federation Proc.*, 6:479.
PETERSON, W. H., and PETERSON, M. S. *Bact. Rev.*, 1945, 9:1945.
PORTER, J. R. *Bacterial Chemistry and Physiology*, 1946, New York, 1073 pp.
SMITH, D. T., RUFFIN, J., and SMITH, S. G. *J. A. M. A.*, 1937, 109:2054.
SPIES, T. D., COOPER, C., and BLANKENHORN, M. A. *J. A. M. A.*, 1938, 110:622.
VAN NIEL, C. B. *Bact. Rev.*, 1944, 8:1.
———. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, 1946, 11:302.
VILTER, R. W., VILTER, S. P., and SPIES, T. D. *J. A. M. A.*, 1939, 112:420.
WARBURG, O., CHRISTIAN, W., and GRIESE, H. *Biochem. Z.*, 1935, 282:157.
WARING, W. S., and WERKMAN, C. H. *Arch. Biochem.*, 1944, 4:74.
WILSON, J. B., and WILSON, P. W. *J. Bact.*, 1942, 43:329.

CAPITULO IV

METABOLISMO DE LAS BACTERIAS

El metabolismo, término general para todos los cambios químicos asociados con la vida, suele dividirse en la práctica en dos partes, cada una de las cuales tiene cierto número de sinónimos.

1. *Anabolismo*, o asimilación, es la que describe los procesos considerados de síntesis, por ejemplo: la producción de proteína.
2. *Catabolismo*, o desasimilación, describe los considerados como degradaciones, por ejemplo, la oxidación del azúcar.

Es evidente que el anabolismo no puede tener lugar, si no va acompañado del catabolismo adecuado para suministrar la energía necesaria. Así, pues, las síntesis están *acopladas* con reacciones productoras de energía, pero los detalles, por lo general, no se conocen. Por otra parte, al parecer, los procesos catabólicos pueden tener lugar con poca o ninguna síntesis, como ocurre en células suspendidas en un medio inadecuado para su desarrollo, pero que permite continuar una respiración intensa por contener glucosa abundante que provee sus requerimientos de energía.

Los tipos de metabolismo observados en las bacterias son tantos y tan variados como los que indican sus requerimientos nutritivos, por lo cual todavía no es posible resumirlos en forma sencilla. Si se conociera la evolución de las bacterias, ello suministraría una base racional para tal exposición, y sin duda indicaría tipos de desarrollo que podrían disponerse en orden de complejidad creciente o decreciente, y adaptaciones correspondientes a cambios del medio. Hoy por hoy, ello no es posible aunque se han hecho varios intentos. Como ha señalado Van Neil (1946) al tratar este problema con respecto a la clasificación, lo mejor sería considerar el problema en su aspecto práctico y referirse a lo que tenga utilidad. En este capítulo se tratarán solamente algunas de las fases más importantes del metabolismo bacteriano.

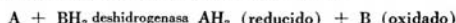
Respiración. Este término, cuando se aplica al metabolismo bacteriano, tiene otro sentido que al referirse a los mamíferos, pues indica las diversas reacciones de óxidorreducción productoras de energía que pueden ser utilizadas para hacer un trabajo. Así, pues, la respiración es un tipo de catabolismo o desasimilación. Nótese que no implica necesariamente utilización de oxígeno molecular, aunque en muchas bacterias el oxígeno es necesario para la respiración; en otras muchas la óxidorreducción ocurre sin él. Los organismos que requieren oxígeno son llamados *aerobios;* los que no pueden vivir en presencia de oxígeno son *anaerobios;* los que se desarrollan bien con oxígeno, pero pueden pasar sin él, son *anaerobios facultativos;* aquellos que se desarrollan mejor a tensiones bajas de oxígeno son designados como *microaerófilos.*

Para entender por qué el término respiración se ha generalizado hasta incluir procesos anaerobios, es necesario recordar la definición de oxidación. Químicamente, oxidación es uno de los siguientes procesos:

1. Adición de oxígeno: $H_2 + \frac{1}{2} O_2 \rightarrow H_2O$

2. Pérdida de un electrón por un elemento: $Fe^{++} \rightarrow Fe^{+++}$
3. Pérdida de un hidrógeno por un compuesto: $CH_3 - CH_3 \rightarrow CH_2 = CH_2$.

En cada caso puede decirse que un *donador* cedió algo a un *aceptor*. En el primero, los electrones del hidrógeno son compartidos por el oxígeno. En el segundo, el Fe cede un electrón a un elemento que no se indica. En el tercero, el etano cede dos hidrógenos a un aceptor que tampoco se expresa. Se dice entonces que el aceptor se reduce. Para nuestros propósitos, se puede tomar el último caso como el proceso básico en la oxidación biológica usual, y como se trata de un proceso de deshidrogenación debe ser catalizado por una deshidrogenasa. La reacción se puede representar de modo general como sigue:



$$A + BH_2 \xrightarrow{\text{deshidrogenasa}} AH_2 \text{ (reducido)} + B \text{ (oxidado)}$$

La substancia A reacciona con BH_2 en una reacción catalizada por una deshidrogenasa. El hidrógeno es transferido de este modo de B a A, y así B es oxidado y A reducido. Las variedades biológicas de esta reacción dependen de tres circunstancias:

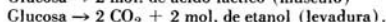
1. *La preparación BH_2 antes de la oxidación*. La glucosa debe ser fosforilada antes que pueda ser oxidada; el ácido láctico puede ser atacado como tal.
2. *El destino de B después de la oxidación*. En algunos casos no ocurre nada más, en otros el compuesto sufre repetidas deshidrogenaciones (y descarboxilaciones) hasta que no queda nada.
3. *El tipo de aceptor de hidrógeno empleado*. La substancia A puede ser un portador de coenzima que recoge el hidrógeno y lo transfiere a otra segunda reacción; así, por ejemplo, puede pasar a otro portador, como el sistema citocromo, o a otro substrato como el ácido pirúvico. El oxígeno mismo puede ser el aceptor, en cuyo caso se forma peróxido de hidrógeno o agua.

Que el sistema de oxidación sea aerobio o anaerobio depende de la naturaleza del tipo de aceptor de hidrógeno. Cuando el oxígeno es el aceptor final el sistema es aerobio; en otro caso es anaerobio.

Los sistemas de óxidorreducción se llaman fermentaciones, especialmente en las bacterias, donde el producto da nombre al proceso: fermentación láctica, propiónica, alcohólica. La ecuación para tales fermentaciones suele presentarse así:



Glucosa → 2 mol. de ácido láctico (músculo)



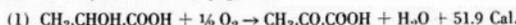
Glucosa → 2 CO_2 + 2 mol. de etanol (levadura).

El lector recordará probablemente que estos procesos son, en realidad, muy complejos e incluyen cierto número de enzimas. En el caso del músculo, la glucosa es transformada en hexosadifosfato, que se escinde en dos moléculas de triosafosfato. El equilibrio resultante de las reacciones cíclicas es tal que los derivados que preceden al ácido láctico son alternativamente reducidos y oxidados en número igual de veces, de modo que los dos procesos tienden a anularse el uno al otro. En este caso, el aceptor de hidrógeno es generado en el curso de la reacción misma.

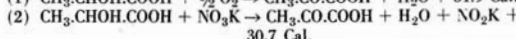
Sin embargo, existe una diferencia notable, con respecto a las fermentaciones, entre los microorganismos y mamíferos. La fermentación del ácido láctico del músculo prosigue con acumulación de muy poco ácido láctico, pues tan rápidamente como se forma parte de él es oxidado hasta anhídrido carbónico y agua, mientras el resto es resintetizado en glucógeno. En la fisiología de los mamíferos, la constancia del medio interno debe ser mantenida dentro de límites estrechos; en consecuencia, los mecanismos reguladores tienden a prevenir la acumulación de productos del metabolismo intermediario. Además, el curso de los fenómenos de la respi-

ración es tal que los substratos son oxidados hasta anhídrido carbónico y agua; el oxígeno es el último aceptor de hidrógeno por vía del sistema Warburg-Keilin (véase a continuación). Esto último es obligado, al punto que la muerte sobreviene casi inmediatamente en ausencia del oxígeno. En las bacterias, la situación es diferente. La oxidación incompleta es regla, más que excepción, y los productos de las fermentaciones se pueden acumular en grandes cantidades; la falta de oxígeno siempre puede ser tolerada, por lo menos durante horas, y para algunas especies la presencia de oxígeno es letal.

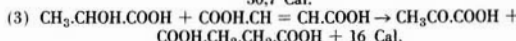
Además de los sistemas especiales de óxidorreducción peculiares de las diferentes fermentaciones, y del sistema Warburg-Keilin, que permite al oxígeno molecular servir como aceptor de hidrógeno, las bacterias poseen otros mecanismos de gran importancia. Siguiendo el ejemplo del ácido láctico, veamos los datos siguientes tomados de Stephenson (1938, pág. 50):



(1) $CH_3.CHOH.COOH + \frac{1}{2} O_2 \rightarrow CH_3.CO.COOH + H_2O + 51.9$ Cal.



(2) $CH_3.CHOH.COOH + NO_3K \rightarrow CH_3.CO.COOH + H_2O + NO_2K +$ 30,7 Cal.



(3) $CH_3.CHOH.COOH + COOH.CH = CH.COOH \rightarrow CH_3CO.COOH + COOH.CH_2.CH_2.COOH + 16$ Cal.

La reacción 1 implica el uso de oxígeno como aceptor de hidrógeno y libera 51,9 Cal. por molécula gramo. La reacción 2 es anaerobia y catalizada por la nitratasa que activa el nitrato para aportar oxígeno, el cual es reducido a agua y desprende 30,7 Cal. La reacción 3 es anaerobia. Aquí, el ácido fumárico, activado por la deshidrogenasa succínica, fija el hidrógeno del lactato y es reducido a succinato con desprendimiento de 16 Cal. por molécula gramo. Hay dos puntos que deben ser especialmente tenidos en cuenta. Primero: estas reacciones sólo suministran energía cuando hay dos substratos en el medio, uno de los cuales es oxidado mientras el otro es reducido. Segundo: la energía obtenida por mol. de substrato es mucho menor en condiciones anaerobias que en condiciones aerobias; por consiguiente, deben metabolizarse cantidades mucho mayores de substrato para que haya crecimiento. Es por esta razón que las fermentaciones industriales suelen proporcionar mayor rendimiento en condiciones anaerobias.

Las dismutaciones son óxidorreducciones anaerobias en las cuales se produce una autooxidación y una autorreducción; un substrato único sirve como donador y aceptor de hidrógeno. Un ejemplo observado especialmente entre microorganismos de la familia *Bacteriaceae*, es el siguiente:



$$CH_3.CO.COOH + H_2O \rightleftharpoons CH_3.COOH + H.COOH.$$

Cuando se da como substrato a un microorganismo un carbohidrato particular, los productos de desasimilación que se acumulan en el medio dependen, por supuesto, de los tipos de deshidrogenasa y de los aceptores de hidrógeno presentes. En principio, la mayor parte de aerobios y anaerobios facultativos tienden a producir los mismos o similares tipos de productos a partir de la glucosa. Si bien las cantidades relativas varían, los hallazgos más comunes son los ácidos fórmico, acético, pirúvico, láctico y succínico; alcohol etílico, acetilmetilcarbinol, anhídrido carbónico e hidrógeno. El acetilmetilcarbinol, también llamado acetoína, probablemente se forma por condensación de ácido pirúvico y acetaldehído. La prueba de Voges-Proskauer está basada en que, en presencia de un álcali fuerte, la acetoína es oxidada y pasa a diacetilo, el cual entonces se condensa con ciertos constituyentes del

caldo que contiene el núcleo guanidina, para dar color rojo. El caldo debe contener, por tanto, peptona u otro tipo de derivado de carne.

Sistema Warburg-Keilin. En los mamíferos, el hidrógeno es transportado en este sistema hasta que se reúne con el oxígeno y forma agua.

1. Substrato + coenzima oxidada $\xrightarrow{\text{deshidrogenasa}}$ Substrato deshidrogenado + coenzima reducida.
2. Coenzima reducida + citocromo oxidado → coenzima oxidada + citocromo reducido.
3. Citocromo reducido + oxígeno $\xrightarrow[\text{oxidasa}]{\text{citocromo}}$ citocromo oxidado + H_2O.

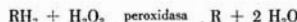
En el esquema, el hidrógeno es transferido de un substrato como el ácido láctico a la coenzima, reacción catalizada por la deshidrogenasa láctica específica; luego, desde la coenzima al citocromo y desde éste al oxígeno, formando agua. Como este sistema suele estar asociado con catalasa, se ha supuesto que se forma peróxido de hidrógeno en lugar de agua (citocromo reducido + O_2 → citocromo oxidado + H_2O_2); el peróxido es descompuesto inmediatamente en agua por la catalasa.

Distribución de las enzinas de hematina *

Tipo	Especies	Citocromo-oxidasa	Citocromo	Catalasa	Peroxidasa
Aerobio	Hombre	+	a b c	+	—
	B. subtilis	+	a b c	+	+
Anaerobio facultativo	*Ps. aeruginosa*	+	a b c	+	+
	E. coli	—	b	+	+
	S. pyogenes	—	—	—	+, —
Anaerobio	*Cl. botulinum*	—	—	—	—

* Datos seleccionados de las revisiones de Porter (1946) y Stephenson (1939).

Otra enzima, frecuentemente asociada con el sistema Warburg-Keilin y catalasa en las bacterias (pero no en los mamíferos), es la peroxidasa, que cataliza la oxidación de compuestos orgánicos por el peróxido de hidrógeno. Ello se puede representar así:



$$RH_2 + H_2O_2 \xrightarrow{\text{peroxidasa}} R + 2\ H_2O$$

Es de gran interés que el citocromo, la citocromooxidasa, la catalasa y la peroxidasa tienen todos la misma estructura química básica. Como las enzimas en general, cada uno consta de un grupo prostético y una proteína. Las proteínas difieren, pero, por lo que se sabe, los grupos prostéticos son idénticos al hem de la hemoglobina, y por tanto contienen hierro. Ya observamos anteriormente, al tratar de los requerimientos inorgánicos (página 44), que la carencia de hierro produce una deficiencia de estas enzimas. Cabe suponer lógicamente la presencia de estas enzimas en relación con los requerimientos aeróbicos de las diversas especies. Esto

se ilustra en la tabla adjunta, que demuestra buena correlación en los extremos, con tipos variables en el centro. Los problemas planteados por estos tipos intermedios todavía están por resolver. Evidentemente, las bacterias poseen sistemas de los que carecen los mamíferos, y pueden escindir sistemas que se encuentran enteros en los mamíferos. La relación entre diversos factores de desarrollo y sistemas de enzimas se indica en la tabla.

ALGUNOS FACTORES DE DESARROLLO Y SUS FUNCIONES METABÓLICAS

FACTOR	FORMA CATALÍTICA PROBABLE	FUNCIÓN
Biotina	?	Coenzima para carboxilación
Beta alanina Acido pantoténico	?	Coenzima para acetilación
Acido nicotínico Coenzimas I y II	Coenzimas I y II	Coenzimas para diversas deshidrogenasas
Piridoxina	Piridoxal	Coenzima para la descarboxilasa
Tiamina	Difosfotiamina	Coenzima para la carboxilasa
Hierro Hematina	Citocromo, peroxidasa, catalasa, citocromo-oxidasa	Enzimas oxidativas
Riboflavina	Dinucleótido Flavina-adenina	Coenzima para aminoácidos, xantina y otras oxidasas

Metabolismo del nitrógeno. El metabolismo del nitrógeno sirve esencialmente dos fines: 1) el suministro de energía, y 2) la síntesis de compuestos complejos, en especial proteínas. El primero no suele ser de mucha importancia, excepto en casos especiales, como en los gérmenes del género *Clostridium* que emplean aminoácidos para esê fin. Muchas especies pueden usar nitratos o nitritos como agentes oxidantes en condiciones cercanas a la anaerobiosis. Sin embargo, la asimilación del nitrógeno suele ser el problema más importante y ya se han señalado un número de tipos en el capítulo sobre nutrición (pág. 42).

Las bacterias fijadoras de nitrógeno transforman el gas nitrógeno de la atmósfera en compuestos biológicamente útiles. Poco se sabe acerca de los pasos reales del proceso. Las bacterias correspondientes son aerobias, como *Azotobacter*, o anaerobias, como *Clostridium pastorianum*. Es de especial interés el género simbiótico *Rhizobium*, cuyas especies infectan los nódulos radiculares de guisantes y otras leguminosas. La planta parece ser esencial para la plena actividad de las bacterias; en este caso, el producto de fijación del nitrógeno parece ser el ácido aspártico.

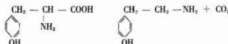
Las bacterias nitrificantes del suelo actúan sobre el amoníaco. Las del género *Nitrosomonas* producen nitritos del amoníaco, los cuales a su vez son oxidados a nitratos por los elementos del género *Nitrobacter*. Estos procesos se inhiben por la presencia de compuestos orgánicos, pero no por carbonatos. El uso de nitratos para la oxidación, con la consiguiente producción de nitritos, constituye la desnitrificación, ya mencionada.

Algunas especies pueden asimilar nitratos. Muchas pueden asimilar amoníaco; otras, además, requieren un número variable de aminoácidos esenciales. Los últimos

son obtenidos por descomposición de tejidos animales o vegetales, con frecuencia por autólisis consecutiva a alguna lesión. Muchas bacterias pueden ayudar al proceso segregando proteasas. Tales enzimas extracelulares, encontradas especialmente entre *Bacillaceae*, *Bacteriaceae* y *Clostridria*, explican el uso de la licuefacción de la gelatina como prueba de laboratorio y son similares por sus propiedades a los correspondientes fermentos en los mamíferos. Así, las enzimas de acción tríptica producen polipéptidos, y la liberación de aminoácidos depende de la presencia de peptidasas. La degradación anaerobia de las proteínas puede llamarse putrefacción, como al desdoblamiento anaerobio de los carbohidratos se llama fermentación.

Debe observarse que todas las bacterias contienen proteinasas intracelulares, nucleosidasas, nucleotidasas, etc., responsables de la síntesis de las diversas proteínas y nucleótidos. Tales enzimas sólo se liberan con la autólisis que sigue a la muerte.

Los aminoácidos son atacados por enzimas intracelulares en diversas formas, como la desaminación oxidativa o hidrolítica y la dismutación, o son asimilados como tales aminoácidos. Un ejemplo especial que tiene valor diagnóstico es la producción de indol a partir del triptófano por *E. coli*, reacción que tiende a ocurrir cuando las proteínas son desdobladas, especialmente en ausencia de carbohidratos. Otro ejemplo especial es la descarboxilación de diversos aminoácidos con producción de las correspondientes aminas; se lleva a cabo por muchas cepas de *E. coli.*, *Strept. faecalis*, *Clostridia* y *Proteus*, pero no por los estafilococos. La reacción que indicamos muestra la conversión de la



tirosina en tiramina y anhídrido carbónico, catalizado por descarboxilasa. La coenzima de la reacción es un derivado de la piridoxina. Esta descarboxilación está asociada con la descomposición de las proteínas, como en la putrefacción de los cuerpos animales o de la carne; las aminas producidas, conocidas también como ptomaínas, son tóxicas. La enzima que descarboxila los aminoácidos y produce las aminas correspondientes (Gale, 1946) no debe confundirse con la carboxilasa encontrada, por ejemplo, en la levadura, que descarboxila el ácido pirúvico y lo transforma en acetaldehido (a su vez reducido a etanol), cuya coenzima deriva de la tiamina.

Otros sistemas. El metabolismo de los lípidos sólo se ha estudiado en relación con los ácidos grasos de cadena corta. Grasas, fosfolípidos, esteroles y ceras son constituyentes importantes de las bacterias, como de otras células, y en general parecen jugar los mismos papeles. Los polisacáridos de las bacterias son de especial importancia, porque en ocasiones forman cápsulas que ayudan a identificar el organismo, o por sus particulares propiedades inmunológicas. Nos ocuparemos de ellos más tarde.

BIBLIOGRAFIA

Annual Review of Microbiology, 1:1947.
GALE, E. F. *Advances in Enzymol.*, 1946, 6:1.
PORTER, J. R. *Bacterial Chemistry and Phisiology*, 1946, New York, 1073 pp.
STEPHENSON, M. *Bacterial Metabolism*, 1939, Longmans, Green & Co., New York.
VAN NIEL, C. B. Cold Spring Harbor Symposia, 1946, 11:285.

CAPITULO V

DESARROLLO DE LAS BACTERIAS

Por dificultades técnicas, rara vez se estudia directamente el desarrollo de una célula bacteriana aislada. Lo corriente es examinar el desarrollo de los cultivos, y de los datos obtenidos deben sacarse consecuencias con respecto a cada célula. El desarrollo de un cultivo, por supuesto, refleja el desarrollo de las células que lo componen, pero las medidas son promedios y en este sentido no son ni más ni menos válidas para cada célula en particular que las cifras medias de altura y peso de los ciudadanos varones de los Estados Unidos cuando se aplican a un individuo determinado. El estudio del desarrollo de un cultivo se complica, porque el medio es asiento de alteraciones constantes debido a la acumulación de metabolitos bacterianos; cualquier interpretación del desarrollo de un cultivo debe tener en cuenta tales alteraciones. Cuando han de hacerse recuentos y han de seguirse en función del tiempo hay que emplear medios líquidos.

Curva de desarrollo. El crecimiento de una población en función del tiempo suele representarse con una escala semilogarítmica; se dispone el logaritmo del número de bacterias por c.c. contra el tiempo en horas. La inclinación de la curva mide la proporción media de división. Supóngase un medio sembrado con 100 bacterias por c.c. cuya velocidad de división es tal que la población se duplica cada media hora. Al final de la primera media hora la población habrá doblado; al final de la primera hora la población habrá doblado de nuevo; por lo tanto, será cuatro veces la original, y así sucesivamente. En tal serie lo que permanece constante es la duplicación de la población cada media hora, y si a cada duplicación le llamamos una generación (o división), se obtiene una línea recta, cuando las generaciones se disponen contra el tiempo, como en la figura 18, línea *A*. Se obtiene una relación lineal similar cuando se emplea el logaritmo del número de células en lugar de las generaciones.

La curva *B* de la figura 18 representa la curva real de desarrollo. En el tiempo cero se inoculó el medio con 100 bacterias. Después de una pausa de dos horas, se produce un aumento constante del desarrollo (duplicándose cada media hora) hasta la décima hora, como se manifiesta por la parte lineal de la curva; ello va seguido de un período de desarrollo decreciente; después, por un período estacionario durante el cual la población permanece relativamente constante; finalmente, el período estacionario va seguido de otro durante el cual la población disminuye. El período de declinación, evidentemente, es aquel en el cual la muerte ocurre con velocidad mayor que la división celular. El período estacionario implica una proporción igual de muerte y división, y en la fase de aumento, la multiplicación debe ser mucho mayor que la mortalidad. Sin embargo, no debe creerse que no haya mortalidad durante los primeros períodos del desarrollo.

La velocidad de división en un tiempo determinado se mide por la inclinación de la curva de desarrollo, como se representa en la figura 18; nos referimos a ella en términos de *generaciones por hora*. Una exposición detallada sólo es posible con el uso de cálculos, pero para nuestro propósito bastará con lo que indicamos a

continuación. Primero, el aumento proporcional de una generación durante media hora implica que la población dobla en cada media hora, pero de ello no se sigue que ocurra un 50 por ciento de aumento cada 15 minutos, o un 25 por ciento cada siete minutos y medio. Las cifras correctas son 41 por ciento y 18 por ciento, respectivamente. En segundo lugar, la proporción depende del método de recuento de las bacterias. Los métodos que cuentan el número de bacterias presentes, pero que no distinguen las vivas de las muertas (véase a continuación), darán valores diferentes de aquellos que sólo anotan las vivas. Esta diferencia se hace apreciable al iniciarse la fase estacionaria de la curva de desarrollo.

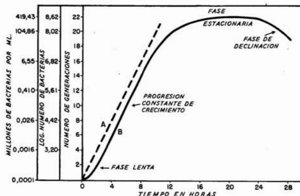


FIG. 18. CURVA DE DESARROLLO.

El número de bacterias por c.c. de medio de cultivo está representado en escala logarítmica en función del tiempo. Está indicado el número de generaciones y también el número creciente de bacterias. La siembra se hizo con 100 organismos por c.c. Obsérvese que la línea *A*, que representa un aumento constante de desarrollo (el número de gérmenes se duplica cada media hora), es recta. La curva *B* representa el cultivo común y muestra una fase estacionaria inicial que precede a un período de desarrollo de aumento constante (paralelo a la línea *A*) que más tarde disminuye

Tres métodos son los de uso general para el recuento de bacterias: 1) La enumeración se puede llevar a efecto por medio de una cámara similar a las usadas en hematología, pero más pequeña, empleada con iluminación de campo obscuro. Este método no distingue los organismos vivos de los muertos. 2) Las medidas de turbiedad de cultivos en caldo. Después de alcanzar concentraciones de 10 millones de bacterias por c.c., los cultivos resultan suficientemente turbios para que puedan medirse con los fotómetros usuales de los laboratorios. Las medidas de densidades ópticas se convierten en organismos por c.c. empleando los factores obtenidos por recuentos de células con los métodos 1) ó 3). 3) Los recuentos en placa, que implican la dilución del cultivo hasta densidad aproximada de 100 bacterias por c.c. y la diseminación de una muestra sobre la superficie de una placa de agar, en la que se cuentan las colonias después de incubación. Este método solamente determina el número de bacterias viables. Ninguno de los métodos da toda la información desea-

da. Los 1) y 2) cuentan todas las células presentes; el 3) sólo las viables. El método 2) depende, en parte, del tamaño y forma de los microorganismos, pero el 1) y el 3) no estiman tales datos. Una información adicional en cuanto a la naturaleza del proceso de desarrollo puede obtenerse estimando el tamaño de las células. La cantidad de bacterias también puede expresarse en términos de nitrógeno (Kjeldahl) por unidad de peso seco o en respiración como microlitros de oxígeno por miligramo de peso seco y por hora.

Después de lo dicho podemos interpretar las fases principales de la curva de desarrollo *B* de la figura 18. Después de la siembra, al tiempo cero, las células se encuentran en un nuevo medio y se adaptan a cambios tales como presión osmótica, equilibrio ácidobásico, substratos y tensión de oxígeno y anhídrido carbónico. Además, durante esta fase, conocida como *período estacionario inicial*, empiezan los procesos metabólicos asociados con el desarrollo activo, de aquí que el volumen respirado por unidad de masa del protoplasma se duplica o triplica. Henrici (1923) observó en *E. coli* que las células tienden al principio a aumentar de tamaño, pero no se dividen, de manera que se forman células excepcionalmente grandes. Con el comienzo de la división, el tamaño medio rápidamente se normaliza; cuando la velocidad de división se hace constante, se alcanza el período logarítmico o exponencial del desarrollo. Martin (1932) demostró que la respiración por célula, pero no por unidad de masa del protoplasma, disminuye durante la fase de desarrollo exponencial; la disminución por célula depende simplemente del pequeño tamaño de ésta.

En medios con buena regulación del pH y, por lo demás, adecuados, la proporción constante de desarrollo continúa hasta alcanzar una densidad de población de 15 a 50 millones de células por c.c., después de lo cual el desarrollo disminuye y la mortalidad se eleva. Esto se debe al agotamiento del medio, a cierta alteración del pH, etc. (Cleary y col., 1935). Las células en tales condiciones adoptan un tipo de metabolismo *de reposo*. El estudio del cultivo a partir del cual se hizo la siembra tiene mucha importancia para la duración del período estacionario inicial; éste es mínimo cuando se emplea un cultivo en desarrollo activo. Cuando el material a sembrar se toma en el período de declinación, pueden transcurrir horas antes que el desarrollo se establezca relativamente bien.

Variables que afectan el desarrollo. La rapidez de desarrollo es función de diversas variables. Las diferentes especies, en condiciones óptimas, difieren considerablemente en máximo de crecimiento debido a las limitaciones de su propia química. Las condiciones óptimas incluyen, en primer lugar, la temperatura. Las bacterias pueden dividirse groseramente en tres grupos, según los límites de temperatura entre los cuales se desarrollan: *psicrófilas*, —5° a 30° C., óptimo a 10°-20° C.; *mesófilas*, 10°-45° C., óptimo a 20°-40° C., y *termófilas*, 25°-80° C., óptimo a 50°-60° C. Las bacterias marinas se hallan entre las que se desarrollan bien a las temperaturas más bajas, mientras que las de las aguas termales lo hacen mejor a temperaturas muy altas. Las bacterias patógenas se desarrollan mejor de 37° a 40° C.

El pH del medio afecta en forma considerable la velocidad del desarrollo. Los organismos que producen ácidos pueden bajar el pH en varias unidades. El tipo de substrato disponible también puede jugar gran papel. Como ya hemos hecho observar, la adición de peptona a un medio salino glucosado puede duplicar el desarrollo de *E. coli*. En este respecto los organismos pueden adaptarse.

Variación y herencia. El fenómeno de adaptación se puede ilustrar por los bien conocidos estudios de Fildes, Gladstone y Knight (1933) sobre ciertas cepas exi-

gentes de bacilo tífico que requerían triptófano para el desarrollo, y que se desarrollaban más rápidamente en presencia de valina, leucina y cistina. Eventualmente las cepas se desarrollaban bien sin aminoácidos, excepto triptófano; por disminución gradual de éste, también se hacía innecesario. Esta posibilidad de *adaptación* se presenta en muchos casos en el laboratorio, y ya hemos indicado cuán rápidamente el bacilo tuberculoso puede hacerse menos exigente después de aislado. Acompañando a tales cambios puede haber también disminución de virulencia, variación de forma lisa a rugosa y disminución de resistencia para el bacteriófago.

En el mejor de los casos, los mecanismos fundamentales de tales alteraciones apenas son conocidos, pero en general se considera en términos genéticos. El hecho de reproducirse las especies bacterianas significa que debe existir un mecanismo genético, aunque la falta de diferenciación sexual (por lo menos no se ha logrado descubrirla hasta ahora) sugiere que el mecanismo de la herencia es diferente del de las plantas y animales superiores. Sea como sea, durante el desarrollo de un cultivo aparecen variantes con características diferentes, y si estas variantes se aislan se reproducen puras. El ejemplo clásico de ello es *E. coli mutabile* que normalmente puede metabolizar la glucosa pero no la lactosa. Lewis (1934) demostró que en cualquier subcultivo preparado con una siembra de la cepa madre, de cada 5 000 bacterias una puede utilizar la lactosa tan bien como la glucosa. Esto es cierto aun cuando los subcultivos únicamente provengan de una bacteria y solamente se puede explicar suponiendo que en ocasiones ocurren mutaciones espontáneas. Los organismos resultantes de la mutación conservan su capacidad de usar la glucosa, aun cuando se hagan subcultivos en lactosa. Por otra parte, las enzimas para lactosa de los nuevos organismos son inactivas en presencia de glucosa, aun cuando también haya lactosa; su actividad reaparece rápidamente en ausencia de glucosa cuando se suministra lactosa (Monod y Audureau, 1946).

Estos datos ilustran dos puntos importantes: 1) entre las bacterias ocurren mutaciones espontáneas, como la capacidad de metabolizar la lactosa; 2) tales mutaciones pueden afectar sistemas cuya expresión (fenotipo) depende de condiciones adecuadas del medio. En el ejemplo citado, la ausencia de glucosa y la presencia de lactosa son las condiciones necesarias. La presencia de glucosa reprime la expresión del sistema lactosa, pero no evita su herencia. En la terminología de Karstrom (1937), el sistema lactosa es ejemplo de una *enzima adaptativa*, mientras que el sistema glucosa estable lo es de *enzima constitutiva*. Ambos fenómenos de mutación espontánea y enzimas adaptativas desarrolladas juegan, con toda evidencia, papeles importantes en la interpretación de variaciones nutritivas, morfológicas y de otros tipos, incluyendo variaciones en la virulencia.

Además de las mutaciones que ocurren espontáneamente, otras han sido provocadas por la aplicación de luz ultravioleta, rayos X y drogas (véase Quimioterapia). El mejor ejemplo de éstas es la transformación de tipos de neumococos, el estudio de las cuales ha permitido incidentalmente penetrar más la química de la genética que cualquier otro. La base del fenómeno estriba en el hecho de que *Diplococcus pneumoniae* contiene más de 30 tipos diferentes, cada uno de los cuales se reproduce puro y se identifica por las propiedades inmunológicas específicas de los polisacáridos de su cápsula. Además, cada tipo puede presentar la forma M (mucoide) usual a la variante S (lisa) que deriva de la forma M por pérdida de cápsula. Desde un punto de vista genético los diversos tipos M se pueden considerar derivados por mutación del tipo S, en el cual pueden volverse a transformar, como hacen con frecuencia si se siembran en determinados medios. Griffith (1928) descubrió las condiciones necesarias para transformar *in vivo* el tipo no capsulado S en el M capsulado espe-

cífico. El trabajo subsiguiente de Avery y sus colaboradores ha demostrado los factores que intervienen en la obtención *in vitro* del fenómeno. Los materiales requeridos son:

1. Neumococos de tipo S, variantes de algún tipo capsulado.
2. La substancia transformadora específica de tipo. Esta deriva del tipo particular en el cual las variantes (S) van a ser transformadas. Es un ácido desoxiribonucleico: cada tipo produce su propia variedad especial (Avery, McLeod y McCarty, 1944).
3. Suero, que suministra tres factores:
   a) El factor dializable, substituíble por pirofosfato.
   b) El factor de aglutinación, que puede ser reemplazado por desarrollo en un medio semisólido.
   c) El factor no dializable (McCarty, Taylor y Avery, 1946).

Las bacterias S y una cantidad mínima de substancia transformadora específica de tipo son incubadas en caldo-suero; en él aparecen las formas (M) capsuladas correspondientes a la substancia transformadora específica empleada. Estas se reproducen puras indefinidamente en los nuevos subcultivos, en cuanto han adquirido a su vez la capacidad de producir la substancia transformadora específica de tipo que fué suministrada al tiempo de la mutación.

Para apreciar el significado general de este experimento es necesario recordar las bases citológicas de la herencia en animales y plantas. Los genes se hallan dispuestos en línea a lo largo de los cromosomas y están compuestos de ácidos nucleicos. Cada gen interviene en la herencia de ciertos caracteres específicos; cuando ocurre la división celular se reproducen de modo que cada célula hija recibe un gen de su clase. Por consiguiente, una mutación representa un cambio en la estructura de un gen, o en una molécula particular de ácido nucleico dotada de la propiedad de autorreproducción en el momento de la división celular y de cuya presencia depende un carácter particular de célula. El mecanismo químico de la inducción de la cápsula correspondiente al tipo en el neumococo es similar al expuesto anteriormente. Un carácter particular, la cápsula de especificidad inmunológica de tipo, depende de la presencia de un tipo particular de ácido nucleico.

Cuando este último se suministra en condiciones adecuadas a una célula que carece de él, penetra en ella para después reproducirse por sí mismo en cada división y asegurar así la herencia continuada del carácter. El ácido desoxiribonucleico altamente purificado usado en este experimento constituye, pues, nuestra más estrecha aproximación al aislamiento químico de un gen particular.

Aplicaciones: ensayo microbiológico. El conocimiento de la fisiología del desarrollo ha sido útil para cierto número de aplicaciones prácticas. En particular, ha permitido el método de análisis químico conocido como ensayo microbiológico, que vamos a describir, y ha hecho posible diversas fermentaciones industriales, como, por ejemplo, la producción de penicilina.

Un ensayo microbiológico es un método para determinar la presencia de una substancia química por medio del desarrollo o respuesta metabólica de un microorganismo. Depende del fenómeno del "factor limitante". Supóngase, por ejemplo, que una especie particular requiere para su desarrollo la presencia de dos substancias, además de glucosa y sales. Por experimentación se comprueba que la adición de 10 mg de cada una proporciona el desarrollo máximo, y que no tienen mayor efecto las concentraciones más altas. Entonces se efectúa una serie de determinaciones en las cuales la substancia A se conserva a 10 mg por 100 c.c., mientras la substancia B es ensayada a 0, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0, 7,0 y 10 mg. No se obtiene desarrollo cuando no se añade B; en los otros casos, cuando se alcanza la parte estacionaria

de sus respectivos desarrollos, se logran densidades microbianas de 3, 6, 12, 20, 25 y 26 millones de bacterias por c.c., respectivamente. La prueba demuestra que la substancia *B* es necesaria para el desarrollo y que éste es proporcional a su concentración cuando ésta se mantiene por debajo de 7 mg por 100 c.c., *y cuando la substancia A está presente en exceso.* En estas circunstancias, *B* es *el factor limitante,* y en concentraciones que varían de 0 a 2 mg por 100 c.c., el desarrollo es proporcional a su concentración. Este fenómeno proporciona la oportunidad para análisis cuantitativos por ensayo microbiológico. En lugar del desarrollo se puede medir otra función dependiente de él que resulte más precisa o conveniente, como, por ejemplo, la producción de ácido que podrá medirse por titulación después del desarrollo de los cultivos. Tanto en uno como en otro caso, lo común es trabajar con dos series de concentraciones: una, de patrón; la otra, de substancia problema. No siempre es posible o fácil obtener una relación exacta, como en el caso que acabamos de señalar, entre desarrollo y concentración; en tales circunstancias el ensayo del problema se dispone en la mejor forma para contestar esta pregunta: ¿Qué cantidad de solución problema debe emplearse para igualar el efecto de cierta cantidad del patrón? Este último se elige de forma que reduzca al mínimo los errores experimentales.

La validez de la prueba depende de la especificidad con que el organismo reaccione a la substancia ensayada; es esencial en todos los casos verificar tantos compuestos similares como sea posible. En ocasiones reaccionan tantos de éstos que la prueba sólo tiene valor cualitativo. Por otra parte, la especificidad de la prueba depende también de la naturaleza del material que se vaya a analizar. En algunos casos, el organismo empleado puede responder a varios compuestos relacionados, pero sólo uno de éstos tiene significación en el análisis que se efectúa, o los otros se pueden eliminar por algún procedimiento sencillo. Tal separación antes de la valoración final es, por supuesto, una complicación frecuente de análisis puramente químicos. En general, los ensayos microbiológicos tienden a ser métodos de elección cuando se requiere gran sensibilidad; la coenzima I puede ser determinada en concentración de uno por 500 000 000, y la biotina, a la centésima parte, aproximadamente, de esta concentración. En muchos casos éstos son los únicos métodos disponibles o los únicos prácticos para el trabajo sistemático.

Su principal aplicación ha sido la determinación de vitaminas y aminoácidos. Los datos conocidos de nutrición bacteriana proporcionan muchos casos en los cuales factores esenciales para el desarrollo pueden adoptarse como factores limitantes y, por lo tanto, ser adecuados para uso en trabajo de ensayo. Conforme han aumentado nuestros conocimientos, la tendencia ha sido la de seleccionar cepas que requieran un número muy grande de factores de desarrollo, de modo que haciendo a cada uno de éstos factor limitante, se puede idear un sistema total de análisis usando uno o dos organismos. La utilidad de ello en la práctica es evidente. Para los aminoácidos que se encuentran en la Naturaleza tales sistemas han sido ideados empleando ciertas cepas de *Lactobacillus, Str. faecalis* o *Leuconostoc mesenteroides.* Los diversos métodos existentes han sido revisados por Schweigert y Snell (1947). Los adecuados para las vitaminas se encontrarán en la recopilación editada por Dann y Satterfield (1947).

BIBLIOGRAFIA

Avery, O. T., McLeod, C. M., and McCarty, M. *J. Exper. Med.,* 1944, 79:137.
Cleary, J. P., Beard, P. J., and Clifton, C. E. *J. Bact.,* 1935, 29:205.
Dann, W. J., and Satterfield, G. H. *Biological Symposia: Estimation of the Vitamins.* Lancaster, Pa., 1947.

Fildes, P., Gladstone, G. P., and Knight, B. C. J. G. *Brit. J. Exper. Path.*, 1933, 14:189.
Griffith, F. *J. Hygiene*, 1928, 27:113.
Henrici, A. T. *Proc. Soc. Exper. Biol & Med.*, 1923, 21:215.
Karstrom, H. *Ergebnisse der Enzymforschung*, 1937, 1.
Lewis, I. M. *J. Bact.*, 1934, 28:619.
Martin, D. S. *J. Gen. Phys.*, 1932, 15:691.
McCarty, M., Taylor, H. E., and Avery, O. T. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, 1946, 11:177.
Monod, J., and Audureau, A., cited by Lwoff, A. Cold Spring Harbor Simposia on Quantitative Biology, 1946, 11:129.
Schweigert, B. S., and Snell, E. *Nutrition Abstracts and Reviews*, 1947, 16:493.

CAPITULO VI

ACCION DE LOS AGENTES FISICOS SOBRE LAS BACTERIAS

Las fuerzas físicas actuando sobre las bacterias originan muchas de las propiedades y características de estos organismos (Buchanan y Fulmer). Las bacterias, como otras células, son sensibles a las modificaciones físicas de su medio. Por acción de las fuerzas físicas sobre ellas pueden ser estimuladas, atenuadas, impelidas a producir variantes o muertas (Hampil). Las fuerzas físicas que consideraremos aquí son: calor (temperatura), desecación, radiaciones (electromagnéticas, luminosas, rayos X, radio), electricidad, presión (mecánica, osmótica, gaseosa), tensión superficial, agitación, trituración y ondas sonoras de alta frecuencia. Algunas de estas fuerzas producen alteraciones químicas, otras causan desorganización mecánica de las células. En muchos casos estas fuerzas actúan en combinaciones inseparables y resulta imposible aislar los efectos de una fuerza o agente de los efectos de otras que actúan simultáneamente. Los de todas varían con sus intensidades y el tiempo durante el cual actúan.

Temperatura. De todos los factores, el calor tiene la acción más general y es el agente físico que se utiliza con resultados más importantes para el estudio y cultivo de las bacterias, y su destrucción, al esterilizar los diversos materiales.

La temperatura modifica la velocidad de las reacciones químicas y de muchos procesos físicos. Este efecto suele expresarse en términos de *coeficiente de temperatura* de estas reacciones, como la relación entre las constantes de velocidad de las reacciones a dos temperaturas diferentes. De ordinario, se emplea el símbolo Q_{10} para significar el valor de esta relación, cociente o coeficiente para una diferencia de 10° C. Varía con las temperaturas reales a las cuales se determina. Para la mayor parte de las reacciones químicas el valor es mayor de 2, mientras que para casi todos los procesos físicos el valor está más cerca de la unidad. Sin embargo, por condiciones complejas y reacciones catenarias en los sistemas protoplasmáticos no siempre resulta posible determinar por el valor de Q_{10} si el proceso es químico o físico. Como han escrito Buchanan y Fulmer: "El gran significado de la velocidad creciente de reacción si aumenta la temperatura es evidente si se considera que una reacción para la cual $Q_{10}=3$ se efectúa más de cincuenta y nueve mil veces más rápidamente a 100° C. que a 10°, si no hay alteración del cociente para cada grado de aumento de temperatura." En estudios de metabolismo bacteriano, comprobación de desinfectantes e investigación de otros problemas bacteriológicos, es importante tener presente que un aumento de 10° C. en la temperatura entre 18° y 37° C. por lo menos duplica la velocidad de las reacciones.

Para expresar en forma más adecuada la relación compleja entre temperaturas y velocidades de reacción a diferentes niveles de la escala de temperatura, se usa el símbolo μ, tomado de la ecuación de van't Hoff-Arrhenius. Este ha sido llamado el símbolo del "incremento térmico" como criterio del efecto de la temperatura. Se ha utilizado ampliamente en estudios biológicos por Crozier al intentar comprobar si cada grupo de reacciones que tienen la misma "característica térmica" (μ) son procesos influídos por un catalizador común.

Aunque se suele hablar de un óptimo de temperatura para el desarrollo bacteriano, es necesario, en el análisis final, definir la fase o característica de actividad bacteriana a la cual se aplica el término. Las bacterias pueden permanecer en estado de reposo sin desarrollo y pueden morir a determinadas temperaturas bajas. El aumento de temperatura por encima de cierto nivel inhibirá sus actividades, y finalmente, las matará. La actividad bacteriana entre estos límites de temperatura máxima y mínima es muy variable. La temperatura óptima para una rápida multiplicación no siempre es la mejor para obtener el mayor crecimiento; porque los productos de desecho se acumulan más rápidamente a esta temperatura y la catabolia endógena de la fase destructiva tiene incluso un coeficiente de temperatura mayor que el metabolismo anabólico de desarrollo. Las temperaturas óptimas de los procesos fermentativos, proteolíticos y sintéticos no siempre son las mismas que las del desarrollo, y difieren entre sí. Las temperaturas óptimas para la constancia de forma en relación con las fases de la curva de desarrollo varían. En algunos casos la formación de esporas y flagelos tiene temperatura óptima diferente de la que rige la formación de toxina y la virulencia. La constitución antigénica también se afecta con la temperatura. Edwards y Rettger han demostrado que las temperaturas de máximo desarrollo de las bacterias guardan una relación precisa con las temperaturas mínimas de destrucción de las enzimas respiratorias. La clasificación de los organismos en grandes grupos según la relación entre temperatura y desarrollo es como sigue (Tanner):

Grupo	Temperatura en grados centígrados			Tipos
	Mínima	Optima	Máxima	
Psicrófilas	0	15-20	30	Muchas bacterias hídricas Cultivos conservados en frío
Mesófilas	15-25	37	43	La mayor parte de las patógenas
Termófilas	25-45	50-55	85	Bacterias del suelo, agua, fuentes termales

De estos datos resulta evidente que la misma especie puede desarrollarse dentro de un amplio margen de temperatura, y que por cultivo persistente a temperaturas especiales pueden adaptarse ciertas bacterias para que se desarrollen en forma lujuriante a temperaturas apartadas en varios grados de su óptimo normal. En tales casos suelen perderse caracteres especiales de la especie dada. Son ejemplo de ello la pérdida de virulencia y de capacidad de formar esporas que tiene lugar cuando los bacilos del carbunco son cultivados a 42° C. o la pérdida del poder de producir pigmento cuando *Serratia marcescens* se desarrolla a temperaturas por encima de 30° C.

Las formas vegetativas de la mayor parte de las bacterias patógenas pueden desarrollarse a temperaturas que varían entre 20° y 40° C. Esto, sin embargo, no se puede considerar aplicable a todas; algunas, como el gonococo, el neumococo, el bacilo tuberculoso y otras, son muy sensibles a los cambios de temperatura y sólo se desarrollan dentro de ciertos límites de pocos grados. Otras, como los bacilos

del grupo cólico, *Bacillus anthracis*, *Vibrio comma*, etc., pueden desarrollarse a temperaturas tan bajas como 10° C. y tan altas como 40° C. o más. El margen de temperatura para desarrollo de bacterias saprófitas es más amplio todavía.

Efectos letales y destructivos de la temperatura. Las bacterias pueden ser destruídas a temperaturas bajas o altas. Se utilizan ampliamente las temperaturas letales para obtener productos bacterianos, y para suprimir los gérmenes del material esterilizándolo por el calor.

La resistencia de las bacterias a las temperaturas extremas depende de la especie de microorganismo, del estado de desarrollo y de si el organismo contiene o no endosporas. Las esporas tienen muchísima mayor resistencia que las formas vegetativas a temperaturas altas y bajas. La explicación de la alta resistencia térmica de las esporas probablemente se halle en el estado concentrado, deshidratado de su protoplasma.

El efecto de la temperatura también depende de las condiciones en las cuales se aplica. La concentración de hidrogeniones en el medio en que se calientan las bacterias modifica los resultados; el calentamiento en medio ácido ocasiona la muerte con mayor rapidez que en medio alcalino. Las bacterias desecadas resisten temperaturas más altas y por tiempo más largo que las bacterias en estado húmedo. De ahí las diferencias entre los tiempos y temperaturas requeridos por aire caliente seco, agua caliente o vapor para producir el mismo efecto. La duración de la exposición es inseparable de la temperatura para determinar el resultado producido. Además, el número de organismos presentes en el material utilizado guarda relación con el resultado de la exposición.

Las *bajas temperaturas* son mucho menos destructivas que las altas. En la mayor parte de los casos una temperatura de 5° a 10° C. es útil para conservar bacterias vivas por largos períodos de tiempo, pues los procesos metabólicos están ampliamente inhibidos y la vida se mantiene sin verdadero crecimiento en una especie de estado de reposo. La destrucción real por temperaturas bajas rara vez ocurre. Se han expuesto bacilos diftéricos, tíficos y otros a temperatura de aire líquido o de hidrógeno líquido (—250° C.) sin que muriesen los organismos. Los meningococos y gonococos mueren rápidamente cuando se exponen a 0° C. Por otra parte, la congelación de bacterias en agua mata los organismos con rapidez. Este, sin embargo, no es un medio seguro de destrucción ni evita la diseminación de la fiebre tifoidea por medio de helados contaminados. Park demostró que la mayor parte de los bacilos tíficos que se hallan en el agua, pero no todos, mueren cuando ésta se congela, y Hutchins y Wheeler han comprobado que la fiebre tifoidea se transmite por helados. Congelando y deshelando repetidamente un líquido pueden matarse las bacterias y se causa una desorganización más o menos extensa de las células. Este método se ha utilizado para obtener relativamente inalterados constituyentes endocelulares de las bacterias.

La literatura bacteriológica más antigua contiene referencias de muchas determinaciones del denominado *punto térmico mortal* de bacterias. Este término se define como "la temperatura que las matará en condiciones determinadas". [1] El término es equívoco y debería suprimirse. La muerte de las bacterias por influencia de la temperatura es un proceso metódico de reacciones físicas y químicas aceleradas que tienen por resultado la coagulación (Chick). Su coeficiente de temperatura es alto (Q_{10}=7 a 10) entre 50° y 100° C. El elemento tiempo, por tanto, es factor demasiado importante para que sea elegido arbitrariamente en relación con un proceso de velocidad tan variable según la temperatura. De estas antiguas determi-

1 Buchanan y Fulmer, *Physiology and Biochemistry of Bacteria*. Baltimore. 1930.

naciones ha surgido el conocimiento útil en la práctica, de que las formas vegetativas de las bacterias patógenas mueren por exposición a 50° ó 60° C., en agua o caldo durante quince a sesenta minutos. Los diversos factores adicionales que hemos mencionado, concentración de hidrogeniones, número de organismos, edad de los cultivos y especie bacteriana, modifican el resultado y deben mantenerse constantes para dar valor a cualquier determinación de *punto térmico mortal*. "No hay una combinación única de tiempo y temperatura que pueda ser definida como punto térmico mortal." [2]

Resulta más aceptable la expresión *tiempo térmico mortal*, usado por Esty después de su introducción por Bigelow en 1921 para designar la relación tiempo-temperatura en condiciones determinadas. Desde entonces se han efectuado cierto número de estudios, que mencionaremos en las secciones correspondientes, para determinar los tiempos térmicos mortales de los bacilos tuberculosos, espiroquetas y otras bacterias patógenas. En muchos de los trabajos antiguos se eligieron temperaturas más altas que las que realmente podía soportar el organismo animal. Desde el advenimiento de medidas terapéuticas basadas en la diatermia y en la fiebre artificial producidas por corriente eléctrica de alta frecuencia, ha ido ganando importancia la determinación de los tiempos térmicos mortales entre 39° y 42° C., como demuestran los trabajos de Carpenter, Boak y colaboradores. En la pasteurización de la leche se utiliza una temperatura de 61° a 63° C. durante treinta minutos, por cuanto esta combinación mata los bacilos tuberculosos y otras formas vegetativas de bacterias patógenas sin efectos perjudiciales para la leche. Al esterilizar las vacunas bacterianas por el calor es aconsejable matar los gérmenes a la temperatura que altere lo menos posible su composición. Para ello el calentamiento a 60° C. durante treinta a sesenta minutos es el procedimiento usual, pero probablemente el material celular sufriera menos alteración si las suspensiones se calentaran a temperatura más baja por más tiempo. En algunos casos las vacunas inactivadas por el formol son superiores a las calentadas.

Esterilización por calentamiento. El agente físico más útil y eficiente para la esterilización es el calor.

El calor se puede aplicar en forma seca o como calor húmedo; estos métodos son de gran valor práctico, pero de aplicación diferente, según la naturaleza de los materiales que deben esterilizarse. Los dos métodos muestran, además, distinta eficacia, a igualdad de temperatura. Debemos el reconocimiento de este hecho a las primeras investigaciones de Koch y Wolffhuegel, y de Koch, Gaffky y Löffler.

Estos observadores pudieron demostrar que las esporas del carbunco eran destruídas por ebullición en agua a 100° C. en uno a doce minutos, mientras que el aire seco sólo las mataba después de una exposición de tres horas a 140° C. Muchos investigadores han confirmado estas diferencias. Una explicación del fenómeno ha de encontrarse probablemente en alteraciones de la coagulabilidad de las proteínas ocasionadas por el agua. Lewith, trabajando con diversas proteínas, comprobó que estas substancias coagulan por el calor a temperaturas más bajas cuando contienen cantidades abundantes de agua, que cuando ésta se les ha sustraído. Basándose en experimentos con albúmina de huevo, obtuvo los siguientes resultados, que aclaran el punto en cuestión:

Albúmina de huevo en solución acuosa diluída, coagula a 56° C.
Albúmina de huevo con 25 por ciento de agua, coagula a 74°-80° C.
Albúmina de huevo con 18 por ciento de agua, coagula a 80°-90° C.
Albúmina de huevo con 6 por ciento de agua, coagula a 145° C.

[2] J. R. Esty. *Newer Knowledge of Bacteriology and Immunology*, Chicago, 1928, Cap. 21, pp. 285-300.

La albúmina de huevo absolutamente anhidra puede calentarse, según Haas, a 170° C. sin que coagule. Es evidente que las bacterias expuestas al aire caliente pueden deshidratarse considerablemente antes que la temperatura suba lo suficiente para causar la muerte por coagulación; la deshidratación completa quizá exija para su destrucción una verdadera incineración.

Por otra parte, las bacterias expuestas al aire húmedo o al vapor pueden absorber agua y hacerse más coagulables.

Aparte de la enorme eficacia del calor húmedo cuando se compara con el calor seco a igual temperatura, una gran ventaja práctica que posee el calor húmedo es su mayor poder de penetración. Un experimento efectuado por Koch y sus colaboradores ilustra este punto con toda claridad. Prepararon pequeños paquetes de tierra de jardín envueltos en telas de espesor variable provistas de termómetros de modo que se pudiera determinar la temperatura bajo un número determinado de capas. Se expusieron al aire caliente y al vapor para comparación y los resultados fueron los siguientes:

Procedimiento	Temperatura en grados centígrados	Tiempo de aplicación en horas	Capas de tela. Temperaturas alcanzadas dentro			Esterilización
			20 capas	40 capas	100 capas	
Aire caliente	130°-140°	4	86°	72°	Por debajo de 70° C.,	Incompleta
Vapor	90°-105,3°	3	101°	101°	101,5°	Completa

Este gran poder de penetración del vapor depende probablemente de su peso específico, relativamente bajo, que le permite desplazar el aire del interior de los poros del material, y también de que al ponerse en contacto el vapor con los objetos tiene lugar una condensación con liberación de calor. Cuando un vapor pasa al estado líquido libera determinada cantidad de calor, que en caso del vapor de agua, a 100° C., viene a ser de 537 calorías. Esto produce un rápido calentamiento del objeto en cuestión. A continuación tiene lugar un calentamiento adicional por conducción; es bien conocido que el vapor conduce mucho mejor el calor que el aire.

El calor húmedo puede aplicarse como agua hirviendo, en la cual, por supuesto, la temperatura varía poco de los 100° C., o como vapor. Este se puede usar como sale, en forma de vapor fluente, sin presión, cuya temperatura es más o menos constante de 100° C.; se puede lograr mayor eficacia por el uso del vapor a presión, en el cual, por supuesto, se pueden producir temperaturas mayores de 100° C., según la presión que se emplea.

Las esporas de ciertas bacterias del suelo que no pueden matarse con vapor fluente, sino en varias horas, pueden ser destruídas en pocos minutos, o casi instantáneamente, con vapor comprimido a temperaturas que oscilan entre 120° y 140° C. (Magoon).

En todos los métodos de esterilización por vapor, es de gran importancia práctica, como ha señalado Von Esmarch, que el vapor esté saturado, esto es, que contenga tanta agua evaporada como permita la temperatura. Se produce vapor no saturado, o el llamado "vapor sobrecalentado" cuando el calor se aplica al vapor a su paso por cañerías o sobre placas de metal calentadas. En tales casos la temperatura del vapor es elevada, pero como no hay más suministro de agua, el vapor ejerce menos presión y contiene en proporción a su volumen menos agua que el vapor saturado a la misma temperatura. El vapor sobrecalentado, por tanto, es ca-

lentado muy por encima de su temperatura de condensación y literalmente se seca. En consecuencia, su acción es comparable a la del aire caliente mejor que a la del vapor saturado, y hasta cierta temperatura el poder desinfectante en realidad es menor que el del vapor fluente a 100° C. Von Esmarch, quien ha hecho un estudio completo de estos problemas, concluye que hasta 125° C. la eficiencia del vapor sobrecalentado es inferior a la del vapor fluente a 100° C. Por encima de esta temperatura, por supuesto, vuelve a ser activo como en el caso del calor seco.

Métodos prácticos de esterilización por el calor. Combustión. Para destruir objetos o para aquellos que pueden soportar la incandescencia, la *combustión* es un método seguro y fácil de esterilización. El flameado, por pases a través de una llama de alcohol o de Bunsen, es el método que se usa para esterilizar agujas de platino, cubreobjetos u otros objetos pequeños que se utilizan en Bacteriología.

Aire caliente. La esterilización se lleva a cabo en las llamadas cámaras de "aire caliente", sencillas y de construcción variada. El aparato más comúnmente utilizado consiste en una cámara de lámina de hierro de doble pared, las junturas de la cual en vez de estar soldadas están cerradas por remaches. La caja interna de esta cámara está enteramente cerrada excepto a nivel de una abertura en el techo por donde se puede introducir un termómetro; la caja externa tiene una gran abertura en el fondo y dos pequeñas en el techo. Por debajo se adapta un calentador de gas o eléctrico para que actúe directamente sobre el fondo de la caja interna o a lo largo de las paredes internas. Se ajusta un termómetro en la parte superior de modo que penetre en la cámara. El aire de la cámara se calienta directamente por la llama o calentador eléctrico y por el aire caliente que, elevándose de la llama, circula hacia arriba, dentro de la cubierta externa entre las dos cajas, y escapa por la parte superior. Con el fin de asegurar la esterilización absoluta de los objetos en tal cámara la temperatura debe mantenerse entre 150° y 160° C. por lo menos durante una hora. Para esterilizar artículos combustibles en esta cámara debe recordarse que el algodón cambia de color a 200° C. o más. Este método se usa en los laboratorios para esterilizar placas de Petri, frascos, tubos de ensayo, jeringas, pipetas y artículos que se pueden dañar por la humedad. Tanto el calentamiento como el enfriamiento subsiguiente deben hacerse en forma gradual para evitar la rotura del vidrio.

Calor húmedo. Instrumentos, jeringas y otros objetos pueden esterilizarse por ebullición en agua. La ebullición durante unos cinco minutos es suficiente para destruir las formas vegetativas de todas las bacterias. Para la destrucción de las esporas la ebullición por una o dos horas suele ser suficiente, aunque en ocasiones se ha comprobado que las esporas de ciertos saprófitos del suelo resisten el calor húmedo a la temperatura de 100° C. hasta seis horas. La adición de carbonato sódico al 1 por ciento al agua hirviendo apresura la destrucción de las esporas y previene la herrumbre de los objetos de metal esterilizados de este modo. La adición de ácido fénico al agua hirviendo, en concentración de 2 a 5 por ciento, suele asegurar la destrucción de las esporas del carbunco, por lo menos en plazo de diez a quince minutos.

Vapor fluente. La exposición al vapor fluente es, con toda probabilidad, el más práctico de todos los métodos de esterilización por el calor. Se puede llevar a cabo en sencillos utensilios de cocina, como marmitas o calderas de lavar. Para laboratorio, el original artefacto generador de vapor creado por Koch, ha sido desplazado casi completamente por los construídos siguiendo el plan del llamado esterilizador de Arnold (fig. 19). En tal aparato el agua se vierte en el recipiente *A* y de allí pasa al vaso *B*, poco profundo, de doble fondo. La llama inferior vaporiza

rápidamente la delgada capa de agua contenida en *B* y el vapor sube rápidamente a la cámara principal *C*. El vapor que escapa por las juntas de la tapa de esta cámara se condensa bajo la cubierta y cae nuevamente gota a gota, en *A*. La exposición al vapor en tal aparato, durante quince a treinta minutos, asegura la muerte de las formas vegetativas de las bacterias.

Esterilización fraccionada. Para esterilizar los medios de cultivo con tal dispositivo, se emplea el método de esterilización fraccionada a 100° C. Este método se basa en la repetida exposición de los medios a la acción del vapor durante quince a treinta minutos en tres días sucesivos. En la primera exposición se destruyen todas las formas vegetativas. Se dejan entonces los medios a la temperatura ambiente o a la temperatura de la estufa (37,5° C.) hasta el día siguiente, cuando las esporas que pudieran estar presentes se habrán desarrollado para alcanzar formas vegetativas. Estas se destruyen entonces por la segunda exposición. La repetición de este procedimiento en el tercer día asegura la esterilidad. Debe recordarse siempre, sin embargo, que este método sólo es aplicable en los casos en que la substancia que se va a esterilizar es medio favorable para el desarrollo bacteriano en el cual las esporas probablemente se transformarán en formas vegetativas.

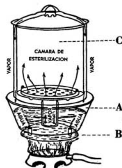


Fig. 19. Esterilizador de Arnold.

Excepcionalmente, el método puede fracasar aún en medios favorables, si contienen bacterias anaerobias formadas de esporas. Así, se ha observado que esporas anaerobias que no se desarrollan en las condiciones aerobias que prevalecen durante los intervalos de la esterilización fraccionada, han germinado después de sembrar los medios con otras bacterias, cuando la simbiosis hace posible su desarrollo. Por este motivo han aparecido bacilos tetánicos en cultivos de bacilos diftéricos empleados para producir toxina. Además, las esporas ligeramente afectadas por el calor pueden necesitar un tiempo más largo del normal para su germinación y desarrollo.

Al anotar la duración de la exposición en el esterilizador de Arnold, es importante tomar el tiempo desde el momento en que la temperatura alcanza los 100° C., no desde que se enciende la llama.

El principio de la *esterilización fraccionada* a temperaturas bajas se aplica también a la esterilización de substancias que no pueden someterse a temperaturas tan altas como 100° C. Este es, en particular, el caso de la esterilización de medios que contienen albúmina cuando debe evitarse la coagulación o cuando se desean ambos, la coagulación del medio y su esterilización.

En tales casos la esterilización fraccionada puede efectuarse con esterilizadores de construcción sencilla, como el condensador de Koch, o en el caso de líquidos, como suero sanguíneo, por inmersión en un baño de agua a temperatura variable por encima de 55° C., según las circunstancias. Las exposiciones a estas bajas temperaturas se puede repetir por cinco o seis días consecutivos, de ordinario durante una hora cada día.

Vapor a presión. El vapor a presión es el medio más poderoso que poseemos de esterilización por el calor. Es aplicable a la esterilización de utensilios, ropa u

objetos cualesquiera de tamaño adecuado y que no sufran con la humedad. Este método es el que se emplea en los laboratorios para esterilizar material infectado, tubos de ensayo, placas de Petri, etc., que contienen cultivos. El aparato más comúnmente empleado en los laboratorios es el llamado autoclave, del que hay gran variedad de modelos, fijos y portátiles. El principio que rige la construcción de todos ellos es el mismo. El aparato suele constar de un cilindro de cubierta metálica provisto de una tapa que puede cerrarse fuertemente por tornillos o tuercas, de un termómetro, una válvula de seguridad y un manómetro para medir la presión del vapor. En los autoclaves más sencillos el agua puede verterse directamente en la parte más baja del cilindro y los objetos que van a ser esterilizados quedan sobre un diafragma perforado; el calor se aplica directamente por medio de una llama de gas. En los modelos fijos más complicados, puede penetrar el vapor procedente de los suministros regulares usados para calefacción. La exposición al vapor a quince libras de presión (sobre la presión atmosférica habitual) durante quince a veinte minutos es suficiente para matar todas las formas de vida bacteriana, incluso las esporas.

En la siguiente tabla se indica la temperatura alcanzada por la aplicación de diferentes grados de presión.

Libras de presión	Temperatura en centígrados	Libras de presión	Temperatura en centígrados	Libras de presión	Temperatura en centígrados	Libras de presión	Temperatura en centígrados
1	102,3°	7	111,7°	13	119,1°	20	126,2°
2	104,2	8	113	14	120,2	22	128,1
3	105,7	9	114,3	15	121,3	24	129,3
4	107,3	10	115,6	16	122,4	26	131,5
5	108,8	11	116,8	17	123,3	28	133,1
6	110,3	12	118	18	124,3	30	134,6

En la práctica, al esterilizar con autoclave deben observarse ciertos detalles técnicos, pues de lo contrario fracasa la esterilización. Siempre debe permitirse la salida de todo el aire del autoclave antes de cerrar la llave de salida. Si esto no se hace, pueden quedar acúmulos de aire, mal conductor, alrededor de los objetos que se van a esterilizar y éstos pueden no alcanzar la temperatura indicada por la presión. Es obligado que, después de esterilizar, la reducción de presión se haga lentamente. Toda baja repentina de presión, como la que se produce al abrir el orificio de salida mientras el manómetro está aún por encima de cero, habrá de provocar ordinariamente una ebullición precipitada del líquido, con salida de los tapones de los frascos.

Desecación. La pérdida de agua por una célula bacteriana da lugar a una serie de alteraciones físicas y químicas que pueden acabar en la muerte del microorganismo. El resultado final, como en otros muchos casos, depende de la especie de organismo, de la fase de desarrollo, de la presencia o ausencia de endosporas, de la concentración de hidrogeniones del medio, de los gases de la atmósfera que rodea a la célula, la temperatura y la rapidez con que la desecación se produce. Además, las cubiertas protectoras formadas por proteínas o cápsulas gelatinosas aumentan la resistencia de las bacterias a la desecación.

Al parecer, son diversas las causas de muerte o atenuación de los organismos por influencia de la desecación. Hay desnaturalización gradual de las proteínas, destruc-

ción de las enzimas, efectos plasmolíticos por aumento de concentración de sales y, probablemente, una acción germicida del oxígeno, como han sugerido Paul, Birstein y Reuss para explicar la muerte de los estafilococos desecados en los vestidos.

Hammer comprobó que las bacterias congeladas y desecadas al vacío conservaban su viabilidad y recomendó usar la desecación al vacío a baja temperatura para preservar cultivos puros durante largos períodos de tiempo. Este método ha sido aplicado con éxito por Brown y Swift y por Flosdorf y Mudd en su aparato *liofilizador*. Por este medio se conservan tanto la virulencia como otros caracteres.

Se ha comprobado que la conservación de cultivos bajo aceite de parafina estéril es útil, como han demostrado Lumière y Chevrotier, Birkhaug y Morton y Pulaski.

Por el proceso natural de desecación al aire, las formas vegetativas de la mayor parte de las bacterias patógenas mueren en pocas horas. También el bacilo tuberculoso, algo más resistente que otras bacterias, muere por desecación al aire en pocos días. Sin embargo, el peligro de infección a distancia por bacterias contenidas en gotitas fué demostrado en los campos militares durante la segunda Guerra Mundial (Robertson, 1947; Lemon, 1947). Las endosporas son extremadamente resistentes a la desecación y sobreviven por largo tiempo en el aire, en el suelo y en objetos secos.

Energía radiante. Los efectos de la energía radiante sobre las bacterias son, aproximadamente, los que cabría predecir según las leyes de interacción entre tales rayos y la materia en general. En primer lugar, sólo es eficaz la energía realmente absorbida por la bacteria desde la fuente de radiación; en segundo, la naturaleza y magnitud del efecto dependen del número y calidad de fotones absorbidos. Esto quiere decir, como se verá, que los efectos dependen no sólo de la luminosidad de la fuente y de la duración de la exposición, sino también de la longitud de onda de la energía radiante que se usa. En el caso de un organismo vivo unicelular no es indiferente cuál parte de su substancia absorban los rayos. La absorción por un pigmento inerte tendrá efecto escaso. La absorción por material que así produce una substancia tóxica, o la absorción por partículas nucleares o elementos de *significación vital* para la célula, tendrá efectos profundos sobre el organismo. El resultado puede ser una estimulación del desarrollo, la alteración o la atenuación de ciertas propiedades, la producción de variantes o la muerte del organismo.

Hay una literatura abundante al respecto. Ha sido resumida con bastante detalle en el capítulo octavo del libro de Buchanan y Fulmer, al que ya nos hemos referido. Los efectos biológicos de las radiaciones han sido revisados por Duggar (1936). En esta sección solamente resumiremos una parte de los conocimientos acerca de efectos ejercidos sobre las bacterias por la luz visible, la ultravioleta, los rayos X y el radio.

Luz. Debe establecerse una distinción precisa entre la acción de la luz sobre los medios de cultivo o líquidos que contienen bacterias y la acción sobre las células. Downes y Blunt, quienes en 1877 demostraron por primera vez que la luz del sol mataba las bacterias, opinaron que la muerte era causada por oxidación. Desde entonces varios investigadores han comprobado que se forma peróxido de hidrógeno en medios acuosos expuestos a *luz solar* o *ultravioleta* y atribuyeron la acción letal al efecto germicida de los peróxidos. La experimentación ha demostrado ser erróneo que el oxígeno desempeñe papel esencial en el proceso, y parece definitivamente establecido que la acción de los peróxidos es insignificante.

Por otra parte, hay pruebas abundantes, presentadas por Clark, Norton y otros, de que la luz produce su efecto por acción fotoquímica directa sobre las bacterias. Bayne-Jones y Van der Lingen comprobaron que el coeficiente de temperatura de

la acción letal de la luz ultravioleta se halla tan cerca de la unidad que es lógico suponer que el proceso sea fundamentalmente físico. Clark lo considera como un efecto fotoeléctrico que produciría alteraciones electrónicas y moleculares, y con ello coagulación desnaturalizante de las proteínas de la célula. Lisse y Tittsler han demostrado que la muerte producida por la luz ultravioleta se acompaña en *E. coli* de reducción de carga potencial. Esto está de acuerdo con el mecanismo de acción indicado por Clark.

Después de la demostración, por Downes y Blunt, de que la luz del sol mataba las bacterias, Koch comprobó que la exposición a luz solar mataba los bacilos tuberculosos en dos horas o menos. La demostración de la acción letal de la luz del sol a través de placas de vidrio fué hecha por Marshall Ward en 1892 y 1893. Fueron necesarias exposiciones largas, de dos a seis horas, para obtener el resultado.

Las bacterias absorben fuertemente la luz ultravioleta de 200 mμ o menos de longitud de onda. La *luz ultravioleta* en la región espectral de 280 a 200 mμ es particularmente eficaz para matar las bacterias. Las radiaciones ultravioleta en la región de Schumann del espectro (125 a 170 mμ) también son muy germicidas.

En general, puede decirse que la luz visible actuando sobre las bacterias durante un largo período ejerce efecto inhibidor, y que la luz ultravioleta, en proporción a su absorción y energía, tiene acción letal, según ha sido demostrado por Gates estudiando los efectos de radiaciones monocromáticas.

Todo el que ha investigado los efectos de la luz ultravioleta sobre las bacterias ha observado aparente aumento en el desarrollo de organismos situados en zonas de la placa vecinas de aquellas en las cuales han muerto los organismos. Es posible que esto demuestre el efecto estimulante de las radiaciones. Hollaender y Duggar comprobaron que dosis subletales de radiación ultravioleta monocromática producían un aparente aumento inicial del número de organismos formadores de colonias y de la fase estacionaria inicial.

Henri observó la aparición de *mutantes* de bacilo carbuncoso en cultivos expuestos a la luz ultravioleta. La posibilidad de producir variantes por acción de la radiación será estudiada en el Capítulo IX.

El efecto de los rayos ultravioleta de baja intensidad y de la luz visible puede ser reforzado por *sensibilización fotodinámica*. Ciertos colorantes, como la eosina y la eritrosina, añadidos a las suspensiones bacterianas expuestas a la luz visible matan las bacterias por rayos que de otra forma serían relativamente innocuos. Esta acción, demostrada por von Tappenheimer e investigada por Clark y otros, depende, en opinión de Bedford, de fluorescencia y absorción selectiva de luz con formación de peróxido.

El cuarzo es transparente a la luz ultravioleta y puede prepararse vidrio de composición especial para transmitir rayos de onda tan corta como son 240 mμ. Estas radiaciones son absorbidas totalmente por el cristal ordinario, por capas delgadas de líquidos que contengan proteínas y por las células de los tejidos. No penetran los tejidos a profundidad mayor de 1 mm. Al usar la luz ultravioleta como germicida, estas substancias deben ser tenidas en cuenta.

Las lámparas de vapor de mercurio a baja presión son particularmente eficaces para esterilizar el aire (Sharp, 1940). Son de uso general en las salas de operaciones (Hart, 1941), salas de hospital y aulas escolares (Wells, 1942). Se usan lámparas de arco de vapor de mercurio de gran intensidad y arcos de carbón para esterilizar el agua de bebida, de piscinas y otros materiales ricos en bacterias que puedan ser expuestos directamente a la radiación o someterse a ellas en capa delgada en recipientes de cuarzo. La helioterapia y la terapéutica por luz ultravio-

leta se basan en parte en la conocida acción germicida de la luz de corta longitud de onda. Sin embargo, dependen casi por completo de un aumento de las fuerzas defensivas del animal, vigorizadas por una serie compleja de reacciones bajo el estímulo de las radiaciones.

La luz polarizada no es dañina para las bacterias. Fué comprobado por Bhatnagar y Lal al estimular el desarrollo de *E. coli* y de *Vibrio comma.*

A pesar del considerable número de investigaciones acerca de los efectos de los *rayos X* sobre las bacterias, los resultados todavía son demasiado contradictorios para permitir generalizaciones. Wyckoff y otros autores han comprobado que los rayos X matan las bacterias. Por otra parte, Dozois, Tittsler, Lisse y Davey, usando la radiación total de un tubo Coolidge de rayos X con 30 kilovoltios (sin filtros) no registraron alteración alguna en la velocidad de migración electroforética o en la viabilidad de *E. coli* con exposiciones tan intensas como 3 000 miliamperios-minutos a 15,2 cm de distancia del tubo. Esta dosis fué unas 100 veces mayor que la aplicada por Wyckoff. Es posible que la luz fluorescente de longitud de onda entre 231 y 390 mμ generada por los rayos X al actuar sobre el recipiente que contiene las bacterias juegue una parte en la acción letal observada a veces (Newcomer). Según Claus, el efecto letal de los rayos X sobre *E. coli* se acrecienta en presencia de sales inorgánicas.

Wyckoff y Rivers observaron que los *rayos catódicos* mataban a *E. coli, S. typhimurium* y *Staphylococcus aureus.* Se calculó que el impacto de un único electrón con la fuerza de 155 kilovoltios mataba la célula.

Las pruebas de acción del *radio* sobre las bacterias son contradictorias. Numerosos investigadores no han podido encontrar que los rayos de la substancia radiactiva maten las bacterias. Por otra parte, Dorn, Baumann y Valentiner, Chambers y Russ y otros han comprobado que el radio y la radioemanación mataban a *E. coli, Staphylococcus aureus,* el bacilo tuberculoso y otras bacterias patógenas después de exposiciones de una a cuatro horas. La acción letal ha sido atribuída a las partículas α y β. Los rayos γ son, al parecer, innocuos. Es posible que estas radiaciones estimulen el desarrollo o causen variaciones en las bacterias (Spencer).

Se ha sugerido la posibilidad de que las bacterias sean estimuladas por *rayos mitogenéticos.*

Corriente eléctrica. Como hemos demostrado en otra parte, una *corriente eléctrica* al pasar por una suspensión de bacterias lleva a los organismos al polo positivo en virtud de la carga negativa de las células. En la misma publicación hemos revisado las medidas de conductibilidad de las bacterias y hemos observado que la resistencia de los organismos suele ser mayor que la del líquido en el cual están suspendidos. Es evidente, por tanto, que al pasar una corriente eléctrica a través de una suspensión de bacterias se producirán calentamiento y efectos electrolíticos en el medio de suspensión y también dentro de las células. Las bacterias y sus esporas pueden ser muertas por el paso de una corriente suficientemente poderosa a través de una suspensión. Gelpi y Devereux y otros autores opinan que la corriente ejerce una acción letal directa sobre los organismos y que las alteraciones en el medio sólo son coadyuvantes. Beattie y Lewis, en 1913, crearon el método de esterización eléctrica de la leche. Se ha aplicado en el proceso de *electropurificación* al *pasteurizar.* Este método no ha sido ensayado extensamente en el tratamiento de infecciones, pero Grossman y Appleton han investigado la posibilidad de la electroesterilización de los tejidos.

Presión. En el Capítulo VII consideraremos los efectos de las alteraciones de *presión osmótica.* Las reducciones grandes y repentinas de presión osmótica pueden

destruir las bacterias por *plasmoptisis*. Los aumentos extremos, producidos por transferencia de las bacterias de soluciones diluídas a otras concentradas, *plasmolizan* las células, pero no siempre las matan. En realidad las bacterias parecen ser extraordinariamente resistentes a las alteraciones de la presión osmótica.

La *presión mecánica* aplicada a las bacterias en suspensión no las desorganiza, puesto que actúa igualmente en todos sentidos. Se han aplicado presiones enormes sin matar a los organismos. Larson, Hartzell y Diehl utilizaron presiones que oscilaban entre 3 000 y 12 000 atmósferas. Las superiores a 3 000 atmósferas no mataban a los bacilos ni a los cocos. Una presión de 6 000 atmósferas mataba a todos los organismos no formadores de esporas en catorce horas, pero las esporas de *Bacillus subtilis* no morían obligadamente por presiones hasta de 12 000 atmósferas en el mismo lapso.

La disminución repentina de la presión, especialmente cuando hay gases en el medio, destruye las bacterias. La expansión rápida del gas disuelto en las células las rompe. La aplicación de este método para obtener células desintegradas para preparar vacunas ha sido descrita por Crowther, siguiendo observaciones de Larson, Hartzell y Diehl.

Agitación y trituración. La acción mecánica que destruye la organización celular matará a las bacterias. La agitación puede afectar el estado del protoplasma celular o ser bastante violenta para romper la membrana celular. La trituración de las bacterias, pulverizándolas en un mortero con arena, o en un vaso con perlas de vidrio, es un procedimiento bien conocido utilizado para reducir las células a fragmentos con el propósito de extraer su contenido. Las bacterias, sin embargo, resisten a este tipo de acción mecánica. Suele ser necesario congelar las bacterias y continuar el proceso de pulverización por largo tiempo para desmenuzar las células.

Las *vibraciones supersónicas* producidas por ondas sonoras de frecuencias del orden de 290 000 por segundo, tienen acción destructora máxima sobre las células y organismos unicelulares. Estas ondas sonoras de alta frecuencia, producidas por oscilaciones piezo-eléctricas, rompen las células y organismos en fragmentos que no son viables. Es probable que se produzca oxidación por el peróxido de hidrógeno formado en el agua sometida a la energía sónica, como han demostrado Flosdorf, Chambers y Malisoff. También es probable que se produzcan oquedades por el gas liberado, como han indicado Schmidt y Uhlmeyer. Los intensos efectos fisiológicos de estas ondas sonoras de alta frecuencia y de alta intensidad han sido estudiados por Wood y Loomis, Johnson y otros. Han sido utilizadas en la práctica por Chambers y Gaines para esterilizar la leche. Rivers, Smadel y Chambers inactivaron los cuerpos elementales del virus vacunal por vibraciones sónicas de unos 8 900 ciclos por segundo. En el proceso los cuerpos elementales no se destruyeron.

Por muy difícil que resulte separar la acción química de determinadas substancias de los efectos físicos creados por los cambios de tensión superficial por ellas producidos, sigue en pie el hecho de que la tensión superficial es una de las fuerzas físicas importantes que rigen las propiedades y el comportamiento de las bacterias.

BIBLIOGRAFIA

Bayne-Jones, S., and Van Der Lingen, J. S. *Johns Hopkins Hosp. Bull.*, 1923, 34:11.
Bhatnagar, S. S., and Lal, R. B. *Nature*, 1926, 117:302.
Beattie, J. M., and Lewis, F. C. *Med. Res. Comm. Spec. Rep.*, Ser. N° 49, London, 1920.
Bedford, T. H. B. *Brit. J. Exper. Pathol.*, 1927, 8:437.
Birkhaug, K. E. *Science*, 1932, 76-236.

Boak, R. A., Carpenter, C. M., and Warren, S. L., *J. Exper. M.*, 1932, 56:741.
Brown, J. H. *Abs. Bacteriol.*, 1926, 9:8.
Buchanan, R. E., and Fulmer, E. I. *Physiology and Biochemistry of Bacteria*, Baltimore, 1930, 2:1-206.
Carpenter, C. M., Bishop, F. W., and Warren, S. L. *J. Exper. M.*, 1932, 56:719.
Chambers, H., and Russ, S. *Proc. Roy. Soc.*, London, B, 1912, 84:124.
Chambers, L. A., and Gaines, N. *Scient. Am.*, 1932, 146:367.
Chick, H. *J. Hyg.*, 1910, 10:237.
Clark, J. H. *Physiol. Rev.*, 1923, 2:277.
Claus, W. D. *J. Expert. M.*, 1933, 57:335.
Crowther, D. *J. Ind. & Eng. Chem.*, 1932, 10:43.
Crozier, W. J. *J. Gen. Physiol.*, 1924, 7:189.
—— *Proc. Nat. Acad. Sc.*, Washington, 1924, 10:461.
Dorn, E., Baumann, E., and Valentiner, S. *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, 1905, 51:328.
Downes, A., and Blunt, T. P. *Proc. Roy. Soc.*, London, B, 1877, 26:488; 1878-9, 28:199.
Dozois, K. P., Tittsler, R. P., Lisse, M. W., and Davey, W. *J. Bacteriol.*, 1932, 24:123.
Duggar, B. M. *Biological Effects of Radiation*, McGraw-Hill Co., New York, 1936.
Edwards, O. F., and Rettger, L. F. *J. Bacteriol.*, 1937, 34:489.
Esty, J. R. *Newer Knowledge of Bacteriology and Immunology*, Chicago, 1928, Chap. 21, pp. 285-300.
Flosdorf, E. W., and Mudd, S. *J. Immunol.*, 1935, 29:389.
—— Chambers, L. A., and Malisoff, W. M. *J. Am. Chem. Soc.*, 1936, 58:1069.
Gates, F. L. *J. Gen. Physiol.*, 1929, 13-231, 249
Gelpi, A. J., and Devereux, S. D. *Science*. 1932, 76:391.
Grossman, L. I., and Appleton, J. L. T. *Dental Cosmos*, 1931, 73:147, 250, 370, 482.
Haas, H. *Prag. med. Wchnschr.*, 1876, 1:639, 659, 676.
Hammer, B. W. *J. Med. Research*, 1911, 24:527.
Hampil, B. *Quart. Rev. Biol.*, 1932, 7:172.
Hart, D. *Arch., Surg.*, 1937, 34:874.
—— *J. Thoracic Surg.*, 1938, 7:525.
—— *J.A.M.A.*, 1941, 117:1610.
Henri, V. *Compt. rend. Acad. d. sc.*, Paris, 1914, 158:1032.
Hill, C. McD., and Clark, J. H. *Am. J. Hyg.*, 1927, 7:448.
Hollaender, A., and Duggar, R. M. *J. Bacteriol.*, 1938, 36:17.
Hutchins, R. H., and Wheeler, A. W. *Am. J. M. Sc.*, 1903, 126:680.
Johnson, C. H. *J. Physiol.*, 1929, 67:356.
Koch, R. *Proc. X. Internat. Med. Congress*, Berlin, 1890.
—— and Wolffhuegel, G. *Mitt. a.d. Kaiserlich. Gesndthsamte.*, 1881, 1, Nº 8.
Larson, W. P. *Newer Knowledge of Bacteriology and Immunology*, Chicago, 1928, Chap. 9, p. 179.
—— Hartzell, T. B., and Diehl, H. S. *J. Infect. Dis.*, 1918, 22:271.
Lemon, H. M. *New Eng. J. Med.*, 1947, 237:988.
Lewith, S. *Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol.*, 1890, 26-341.
Lisse, M. W., and Tittsler, R. P. Technical Bull. Nº 276, 1932. Penn. State College, School of Agriculture and Experimental Station.
Lumière, A., and Chevrotier, J. *C. r. acad. sci.*, 1914, 158:1820.
Magoon, C. A. *J. Bacteriol.*, 1926, 11:253.
Morton, H. E., and Pulaski, E. J. *J. Bacteriol.*, 1938, 35:163.
Newcomer, H. S. *J. Exper. M.*, 1917, 26:657.
Norton, J. F. *Newer Knowledge of Bacteriology and Immunology*, Chicago, 1928, Chap. 29, pp. 371-377.
Park, W. H. *J. A. M. A.*, 1907, 49:731.
Paul, T., Birstein, G., and Reuss, A. *Biochem. Ztschr.*, 1910, 25:367.
Rivers, T. M., Smadel, J. E., and Chambers, L. A. *J. Exper. Med.*, 1937, 65:677.
Robertson, O. H. *Am. Rev. Tuberc.*, 1947, 55:109.
Schmidt, F. O., and Uhlmeyer, B. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1930, 27:626.
Sharp, G. *J. Bacteriol.*, 1940, 39:535.
Spencer, R. R. *U. S. Public Health Reports*, Washington, 1934, 49:183; 1935, 50:1642.
Stabler, S. H. *Am. J. Hyg.*, 1931, 14:433.
Swift, H. F. *J. Exper. M.*, 1921, 33:69.
Tanner, F. W. *Bacteriology*, New York, 1928, pp. 186-199.
Von Esmarch, E. *Ztschr. f. Hyg.*, 1888, 4:197, 398.
Von Tappenheimer, H. *Ergebn. d. Physiol.*, 1909, 8:726.
Ward, H. M. *Proc. Roy. Soc.*, London, B., 1892, 52:393; 1893, 53:23.
Wells, W. F., Wells, M. W., and Wilder, T. S. *Am. J. Hyg.*, 1942, 35:97.
Wood, R. W., and Loomis, A. L. *Phil. Mag.*, 1927, 4:417.
Wyckoff, R. W. G. *J. Exper. M.*, 1930, 52:435, 769.
—— and Rivers, T. M. *J. Exper. M.*, 1930, 51:921.

CAPITULO VII

AGENTES QUIMICOS, SULFONAMIDAS, ANTIBIOTICOS

AGENTES QUIMICOS

Efectos generales del medio químico. Las respuestas de las bacterias a su medio químico han sido ilustradas con muchos ejemplos en los capítulos precedentes. Se ha demostrado que su composición, propiedades físicas, metabolismo, desarrollo, muerte y morfología están influídos por las substancias químicas de los medios naturales o artificiales en que se encuentran. Esta influencia es tan profunda y extensa que, de hecho, resulta imposible tratar adecuadamente de cualquier propiedad de las bacterias sin tomar en consideración, directa o indirectamente, los factores químicos del medio. Buchanan y Fulmer han resumido gran cantidad de información al respecto, incluyendo los efectos tanto de las substancias nutritivas como de las que no lo son. Como ya hemos tratado de algunos de estos efectos nutritivos, y otros los estudiaremos en los capítulos siguientes, aquí vamos a describir algunas de las acciones generales no nutritivas de substancias químicas sobre las bacterias y considerar con cierto detalle sus efectos dañinos, bajo la rúbrica general de desinfección.

Agua. En 1898, Ficker demostró que el agua destilada es tóxica para algunas bacterias. Desde entonces, los experimentos han confirmado la verdad de tal afirmación. Al mismo tiempo, han puesto de relieve la complejidad del proceso. Con toda probabilidad muy pocas de estas pruebas han sido hechas con agua absolutamente neutra y pura. Se comprobó que la mortalidad de las bacterias en el agua crece grandemente por el aumento de la concentración de hidrogeniones (pH 4) y también se eleva en agua alcalina (Winslow y Falk) (pH 8). Indicios de cobre y otros metales, de sales y coloides protectores u otras substancias producidas por las bacterias afectan su mortalidad en el agua. Como las bacterias son resistentes a los cambios de presión osmótica, su inmersión en el agua no las destruye rápidamente por plasmoptisis. No hay duda, sin embargo, de que la difusibilidad se afecta al pasar los organismos de una solución salina al agua pura. Como las suspensiones de bacterias en agua se usan a veces en diversas pruebas y se aplican a las bacterias tantos compuestos en solución acuosa, es necesario tener presente el posible efecto tóxico del agua (Winslow y Brooke) y prevenirse contra él.

La supervivencia de las bacterias en aguas naturales de manantiales y lagos plantea un problema diferente. Ciertos microorganismos, como el bacilo tífico, pueden sobrevivir en aguas naturales cuatro o cinco días (Jordan). Pero estas aguas en realidad son soluciones complejas diluídas y pueden contener productos nutritivos para los gérmenes.

Efectos de las sales. En concentraciones bajas casi todas las sales inorgánicas estimulan el desarrollo bacteriano. Conforme la concentración aumenta, estas sales se hacen tóxicas, dañan a las células por uno u otro mecanismo y acaban por matarlas. La acción a la que nos referimos aquí es distinta del efecto tóxico de la presión osmótica, a la cual, como hemos señalado, las bacterias son resistentes. Los

efectos son referibles a los iones de estos electrólitos en su acción sobre la membrana celular, influencia sobre la permeabilidad, estado físico del protoplasma, efectos sobre catabolia endógena y actividades de las enzimas celulares. Se sabe desde hace mucho tiempo que el cloruro sódico es relativamente tóxico para las células bacterianas. Fabián y Winslow, en un estudio sobre influencia de la viabilidad por varios aniones en combinación con el sodio, han demostrado que tanto los efectos estimulantes de numerosas sales de sodio a bajas concentraciones, como su acción tóxica a concentraciones altas, dependen de su contenido en sodio. La concentración de hidrogeniones era de igual importancia para el efecto inhibidor. Winslow y Dolloff, después de investigar los efectos de los electrólitos sobre la viabilidad de las bacterias, han llegado a la conclusión de que la influencia del sodio, potasio, magnesio, calcio —amplia variedad de cationes metálicos— es cualitativamente idéntica, variando sólo en grado. Se han escrito gran número de trabajos acerca de los efectos fisiológicos antagónicos de los iones. Hay pruebas de que la acción tóxica de un ion puede ser neutralizada por otro ion. Winslow y sus colaboradores han estudiado el tema del antagonismo iónico aplicado a las bacterias y han logrado pruebas del antagonismo cuantitativo, pero en las condiciones de sus experimentos han comprobado que los efectos cualitativos de todos los cationes son análogos. Estos estudios han proporcionado mucha información aplicable al análisis y vigilancia de la desinfección. Los electrólitos alteran la carga de las bacterias (Winslow y Fleeson), afectan su permeabilidad y difusión (Shaughnessy y Winslow) y ejercen acción tóxica directa. Las sales que hemos venido considerando hasta aquí no están clasificadas usualmente como antisépticas o germicidas en las concentraciones usadas en estos experimentos. No obstante, estas sales juegan un papel de importancia en el proceso de desinfección que requiere una atención cuidadosa.

La adición de uno de estos electrólitos a un germicida puede aumentar o disminuir la acción de éste modificando la disociación del germicida o por acción sobre las células bacterianas. Los resultados diferentes obtenidos por varios métodos de comprobación de los germicidas pueden explicarse en parte por estas acciones de las sales.

Consideraciones teóricas de la desinfección. Desde las investigaciones fundamentales de Koch sobre desinfección química se ha acumulado una literatura muy extensa al respecto. Remitimos al lector a los trabajos de Buchanan y Fulmer, Chick, Reichel y Bürgi y Laubenheimer (véase Bibliografía).

Koch observó que, en general, la acción dañina de ciertas substancias químicas es un proceso que requiere tiempo para su ejecución completa, que su rapidez aumenta al elevar la temperatura y que hay diferencia entre las concentraciones de substancia requeridas para inhibir el desarrollo de las bacterias y las concentraciones necesarias para matarlas.

El proceso fué estudiado con mayor detalle en 1897 por Krönig y Paul, quienes idearon métodos seguidos en principio, con diferencias de técnica, en la mayor parte de investigaciones subsiguientes. Este principio, según las palabras de Chick, es *la exposición de un número conocido de bacterias vivas a algún desinfectante y el recuento de las supervivientes por medio de cultivos en placa de tiempo en tiempo hasta que la desinfección sea completa.*[1] Veremos que con frecuencia es suficiente para determinar el punto final de un proceso de desinfección la simple transferencia a medios líquidos, o la inoculación de animales, si bien para un trabajo cuantitativo

1 H. Chick, *A System of Bacteriology in Relation to Medicine*, Londres, 1930, Vol. I, Cap. V, p. 178.

en el análisis del proceso es esencial el recuento de bacterias viables. Muchos ejemplos del proceso de desinfección se pueden ilustrar gráficamente por las curvas de la figura 20, reproducida del artículo de Chick, que muestran la relación tiempo-supervivencia de las esporas del carbunco en fenol al 5 por ciento a 33,3° C. Se observa que la rápida reducción inicial en el número de organismos viables va seguida de una disminución gradual hasta que todos mueren. Es evidente que hay una relación entre el número de bacterias sobrevivientes en la unidad de volumen y el tiempo transcurrido. La gráfica de logaritmos de concentración de supervivientes contra tiempo resulta una línea recta. Estos datos parecen indicar que el proceso de desinfección está regido por la ley de acción de masa y que sería una reacción monomolecular. Chick ha demostrado, sin embargo, que otros casos de desinfección no corresponden a este esquema. Falk y Winslow han analizado algunas de las desviaciones de este orden logarítmico y han puesto de relieve un hecho en el que todos concuerdan: el proceso es tan complejo que la formación matemática, cuando es posible, resulta muy sugestiva, pero no expresa el orden de sucesión de los acontecimientos.

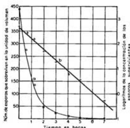


FIG. 20. DESINFECCIÓN DE ESPORAS DEL CARBUNCO, CON FENOL AL 5 POR CIENTO.

Curva *a*, curva de tiempo de supervivientes. Curva *b*, logaritmos de la concentración de supervivientes. (De Chick.)

En nuestra opinión, la desinfección por substancias químicas es, en principio, un proceso químico, sujeto a las peculiaridades de las bacterias y a las influencias ejercidas por las fuerzas físicas sobre ambos componentes de la reacción —el químico y el bacteriano—. Podemos resumir, con pocos comentarios, los factores más importantes a considerar:

A. Factores relativos al desinfectante químico:

1. Naturaleza química de la substancia, inorgánica, orgánica, estructura.
2. Constante de ionización.
3. Concentración.
4. Solubilidad en el medio y en los constituyentes celulares bacterianos.
5. Afinidades para el protoplasma de la célula bacteriana o sus constituyentes.
6. Modo de acción, oxidación, precipitación, etc.

B. Factores relativos a las bacterias:

1. Especie de organismo.
2. Composición química del organismo.
3. Fase de desarrollo, especialmente en relación con las diferencias de sensibilidad de las células jóvenes comparada con la de células viejas, o diferencias entre las células de la misma edad. Las células jóvenes suelen ser más suceptibles que las viejas.
4. Estructuras especiales, esporas, cápsulas.
5. Historia previa del cultivo. Formas resistentes que pueden seleccionarse u obtenerse por aumento gradual de la exposición a los agentes tóxicos.
6. Variación en relación con diferencias de sensibilidad.
7. Número de bacterias en las mezclas que se ensayan.

C. Factores generales que afectan a ambos componentes y al proceso en conjunto:

1. Temperatura. El coeficiente térmico de la desinfección es alta, $Q_{10} = 2$ a 5.
2. Fenómenos de superficie, especialmente adsorción y tensión superficial; relación de éstas con variaciones de concentración de substancias en las películas de interfases, alteraciones en la permeabilidad y difusión.

3. Concentración de hidrogeniones.
4. Presencia de otros electrólitos, que modifican tanto la ionización de la substancia química como las propiedades de las células.
5. Presencia de substancias orgánicas, especialmente proteínas, que pueden reaccionar con el fármaco o formar películas protectoras en los organismos, generalmente disminuyendo la acción del desinfectante.
6. Presión. Importante en algunos casos, especialmente cuando se trata de substancias gaseosas.
7. Tiempo.

Estos factores modifican el proceso de desinfección tanto en el tubo de ensayo como en el cuerpo animal. En este último, sin embargo, toman parte gran número de factores adicionales. Nos ocuparemos de ellos más tarde.

Parece evidente que hoy por hoy no puede establecerse ninguna teoría suficientemente amplia para incluir todos estos elementos. La analogía entre la desinfección y una reacción química indica la naturaleza fundamental del proceso. Nuestro propósito en esta exposición corresponde a las palabras de Chick: "Aunque la interpretación correcta de los fenómenos observados en la desinfección es asunto de gran importancia teórica que promete dar cierta luz acerca del proceso vital de la célula bacteriana, lo que importa desde el punto de vista práctico es darse cuenta de que es un proceso gradual y que en una colección de bacterias una minoría sobrevivirá mucho más tiempo que la mayoría y la atención debe enfocarse sobre aquélla para tener seguridad de la desinfección."

Hemos empleado el término *desinfección* como si su significado fuera claramente establecido. Desgraciadamente no es este el caso. Patterson ha subrayado el hecho histórico de que las palabras *desinfectante* y *antiséptico* se utilizaban antes que se conocieran la naturaleza y las actividades de las bacterias. Los cambios en el conocimiento de microorganismos han dado a estas palabras múltiples significados. Para ser precisos, vamos a indicar las definiciones modernas aceptables, tomadas de la publicación de Patterson y de otras fuentes.

1. *Desinfectante.* "Agente que libra de una infección." Un desinfectante es, por lo general, un agente químico que destruye las bacterias u otros microorganismos. En nuestra opinión no se señala si este término se limita a las substancias usadas para destruir microorganismos innocuos o patógenos, o excluye las esporas bacterianas del campo de acción de las substancias llamadas desinfectantes. Es costumbre hablar de desinfección por la luz, el calor y substancias químicas; estos procesos físicos y químicos tienen una propiedad común, la destrucción de todas las formas de microorganismos, vegetativas y esporas. El mecanismo de la acción letal no es importante en la definición, puesto que el resultado es lo que caracteriza al agente.

Una vez más, es necesario completar esta definición con referencia a los factores tiempo, temperatura, concentración, etc., antes indicados. Una substancia que en concentración suficiente y actuando en condiciones favorables mata a las bacterias, en concentraciones bajas puede estimular o, cosa más frecuente, inhibir los procesos de vida bacteriana sin destruir realmente los organismos.

Es evidente, por tanto, que aunque podemos establecer categorías de procesos y resultados, no es fácil hacer clasificaciones rigurosas de las substancias que responden a estas definiciones.

Sinónimos: germicida, bactericida.

2. *Antiséptico.* "Substancia que impide la sepsis, putrefacción o descomposición", previniendo o deteniendo el desarrollo o acción de los microorganismos. En concentraciones bajas, una substancia puede inhibir el desarrollo; en concentración elevada puede matar las bacterias. Debe llamarse la atención acerca de los numerosos factores que influyen estas acciones. En una comunicación del Departamento de Agricultura de EE. UU. fechada el 18 de junio de 1928, publicada según la Ley Federal de Alimentos y Drogas, se insiste en el tiempo o duración de la aplicación. Los emplastos, las pomadas y los apósitos que permanecen en contacto con el organismo por largos periodos de tiempo se consideraban antisépticos si *inhiban* el desarrollo de las bacterias. Los enjuagatorios, las duchas, los gargarismos y preparaciones análogas que están en contacto con el cuerpo sólo por breves periodos de tiempo, sólo se podían llamar antisépticos si *destruían* las bacterias en las diluciones recomendadas y en un tiempo relativamente breve. Este es ejemplo de una definición práctica que subraya el factor tiempo y, por supuesto, la concentración.

En nuestra opinión el término antisepsia implica inhibición más bien que destrucción de las bacterias.
Sinónimos: bacteriostático, bacteriostasis.
3. *Esterilización.* Proceso consistente en suprimir los microorganismos en sus formas vegetativas, las esporas y los virus. Los agentes químicos y físicos esterilizan por destrucción de las bacterias. La filtración esteriliza por separación mecánica de los microorganismos.
4. *Asepsia.* Prevención del acceso de microorganismos a los materiales. La asepsia bacteriológica, destinada a prevenir la contaminación de los materiales por cualquier tipo de microorganismo, es más exclusiva que la asepsia quirúrgica, dirigida principalmente a impedir la penetración de bacterias patógenas en las heridas.
Para ser más completos mencionaremos los *desodorantes.* Un desodorante es una substancia o un dispositivo que destruye o enmascara los olores ofensivos. Los desodorantes pueden tener propiedades antisépticas o desinfectantes o carecer de ellas. Su función es reemplazar un olor por otro y, por supuesto, no tienen nada que ver con la destrucción de bacterias, ni la prevención de infecciones. No obstante, las viejas creencias populares conservan la noción de miasmas e insisten en el poder patógeno de las emanaciones de cloacas.

Los métodos de comprobación y valoración de los desinfectantes varían según los países, en los diferentes Estados de la Unión Americana y en los diferentes laboratorios. Además, es necesario emplear varios métodos adecuados para las substancias y para los vehículos a los cuales están incorporadas. La mayor parte de estos métodos de valoración se basan en comparar la acción del desinfectante o antiséptico particular con alguna substancia usada comúnmente en condiciones idénticas. Hace muchos años se eligió el fenol como producto de referencia y la relación entre la acción de la substancia problema y la del fenol se conoció como *coeficiente fenol.* El primer método de *coeficiente de ácido fénico* que logró uso general fué el ideado en el año 1900 por Rideal y Walker. Aun está en uso, particularmente en Inglaterra. Una modificación de este método, según Anderson y McClintic, llegó a ser muy utilizado en EE. UU. bajo el nombre de Método del Laboratorio de Higiene. Métodos nuevos están reemplazándolo y tienen valor legal en ese país. Tales son los que se usan en los Laboratorios de la Administración de Alimentos y Drogas del Departamento de Agricultura de EE. UU., bajo cuya supervisión la ley federal ha colocado todos los antisépticos y desinfectantes susceptibles de comercio interestatal. Los procedimientos usados para comprobación de desinfectantes por dicha administración (F. D. A.) fueron establecidos por Shippen y Reddish y se han expuesto en detalle en una publicación oficial del Departamento de Agricultura, de la cual las copiaremos en la sección de técnicas de este libro. El método del coeficiente fenol F. D. A. requiere probar la acción antiséptica o desinfectante contra cepas de *S. typhosa* y *Staphylococcus aureus* de sensibilidad conocida al fenol. Se han establecido también las medidas necesarias para efectuar las pruebas en presencia de materia orgánica y se ha creado un método de *copa plana* aplicable a colutorios, pastas dentífricas y otros productos comerciales compuestos de substancias químicas incorporadas a materiales más o menos inertes. Estos métodos han ayudado a sistematizar las pruebas para obtener resultados precisos y comparables.

La siguiente tabla, tomada de la circular Nº 198 del Departamento de Agricultura de EE. UU., muestra las diferencias entre los métodos F. D. A., de Rideal-Walker y del Laboratorio de Higiene.

Como las diferentes substancias actúan sobre las bacterias por mecanismos diferentes, inhibiéndolas o matándolas por oxidación, coagulación o por otros medios, y son afectadas de manera diferente por los mismos factores, es erróneo compararlas todas con el fenol. Los coeficientes fenol dan información útil para orientación y para satisfacer los requerimientos legales. Sin embargo, con frecuencia es aconsejable extender la comparación a substancias de constitución fundamentalmente similar, como en el caso de sales mercuriales y argénticas, o a una serie de homólogos, como en los alcoholes y resorcinoles. Además, el valor del coeficiente fenol no indica

DIFERENCIAS EN LOS MEDIOS Y EN LA TÉCNICA DE LOS TRES MÉTODOS PARA DETERMINAR EL COEFICIENTE FENOL

DETALLES	MÉTODO F.D.A.	MÉTODO R-W	MÉTODO L. H.
Composición del medio	Peptona,* 10 g Extracto de carne de Liebig, 5 g Sal, 5 g Agua, 1 000 c.c. Hervir 20 minutos	Peptona,** 20 g Extracto de carne de Liebig, 10 g Sal, 10 g Agua, 1 000 c.c. Hervir 20 minutos	Peptona,* 10 g Extracto de carne de Liebig, 3 g Sal, 5 g Agua, 1 000 c.c. Hervir 15 minutos
Acidez del medio	pH 6,8	+ 1,5. pH no definido	No ajustada; el pH entre 6,0 y 7,0
Volumen del medio de cultivo en el tubo	10 c.c.	5 c.c.	10 c.c.
Cantidad de cultivo añadido a la solución de desinfectante	0,5 c.c. a 5,0 c.c.	0,5 c.c. a 5,0 c.c.	0,1 c.c. a 5,0 c.c.
Resistencia del cultivo problema al fenol (diluciones mortales en 10 minutos, no en 5 minutos)	1 - 90	1 - 90 a 1 - 110	No se expresan límites
Condiciones del tubo	Tapado con algodón	Tapado con algodón	Tubo abierto
Temperatura	20° C.	15 - 18° C.	20° C.
Intervalos de tiempo	5, 10 y 15 minutos	2½, 5, 7½ y 10 minutos	5, 7½, 10, 12½ y 15 minutos
Cantidad de producto medicamentoso transferido (tamaño del asa)	Asa de 4 mm (alambre calibre nº 23 B y S)	Asa de 4 mm (alambre calibre Imperial nº 27)	Asa espiral (cuatro espirales arrolladas alrededor de un alambre de calibre Nº 13 B y S. Hecha de alambre del nº 23 B y S)
Cálculo del coeficiente fenol	La dilución más alta que no mata en 5 minutos pero sí en 10 minutos, dividida por la dilución equivalente de fenol	La dilución más alta que no mata en 5 minutos pero sí en 7½ minutos, dividida por la misma para fenol	La media matemática de las diluciones más altas que no permiten desarrollo en 5, 10 y 15 minutos, dividida por la misma para fenol.

* De Armour. *Fabricación especial para comprobación de desinfectante.*
** De Allen y Hanbury.

la utilidad de un antiséptico o desinfectante como agente quimioterápico. Las condiciones en un animal infectado son inmensamente más complejas que las que se pueden crear en el tubo de ensayo. La pretendida eficacia de una substancia para matar o inhibir las bacterias en el animal infectado debe comprobarse por pruebas hechas *in vivo*. Tales pruebas en animales son de uso constante en quimioterapia.

La inhibición de la producción de gas por la levadura, fenómeno observado por Dreser en 1917, fué utilizada por Pilcher y Sollmann para comparar la actividad

de los desinfectantes. El método fué incluído en la Farmacopea de EE. UU. (Revisión X) como medio útil de valoración de los compuestos argénticos, comparándolos con el nitrato de plata. Más tarde, Peterson lo empleó para valorar y clasificar los mercuriales comparando su acción desinfectante con la del cloruro mercúrico. El método fué mejorado por Branham, quien ensayó la actividad inhibidora de cierto número de compuestos, afines o no. La técnica es sencilla y rápida y la información obtenida resulta muy útil.

Datos sobre antisépticos y desinfectantes. Los antisépticos y desinfectantes tienen muchas aplicaciones prácticas en la preservación de materiales orgánicos descomponibles, la esterilización de instrumentos y en Medicina y Cirugía, para profilaxis y tratamiento de las infecciones. Gran número de preparados comerciales, muchos de los cuales se explotan a base de intensa propaganda, deberían ser revisados. El espacio disponible sólo nos permite unos breves comentarios sobre algunas de estas substancias. No definiremos las condiciones de tiempo, temperatura y otros factores que intervienen en la acción de estos desinfectantes, puesto que nos hemos referido a ellas repetidamente. Los coeficientes fenol, determinados según los métodos antes indicados, expresan valores obtenidos a 20° C.

Acidos. Los ácidos minerales tienen poder desinfectante proporcional al grado de disociación de sus soluciones y deben principalmente su acción a la concentración de hidrogeniones que producen. Una solución al 0,2 por ciento de ácido sulfúrico mata a *S. typhosa* en el agua en una hora aproximadamente. El ácido bórico, menos disociado, suele emplearse como antiséptico en soluciones del 1 al 2 por ciento. Debe hacerse notar que los ácidos nítrico y fluorhídrico ejercen su efecto antibacteriano tanto por sus aniones como por los hidrogeniones.

Los ácidos orgánicos, aunque menos disociables en solución que los ácidos minerales, a veces resultan más activos como desinfectantes. Así, el ácido benzoico es unas siete veces más eficaz que el ácido clorhídrico; ello demuestra que toda su molécula o el radical orgánico tienen poder desinfectante (Reid).

Alcalis. La acción desinfectante de los álcalis suele ser proporcional a la disociación y, por tanto, a la concentración resultante de hidroxiliones. Sin embargo, algunos hidróxidos, como el bárico, son desinfectantes más activos de lo que corresponde a su grado de disociación. En estos casos el catión metálico ejerce acción tóxica directa sobre las bacterias. El hidroxilión es menos tóxico que el hidrogenión. Una solución de NaOH o KOH al uno por ciento mata las formas vegetativas de las bacterias en cinco minutos. Las esporas de los bacilos del carbunco son destruídas en 10 minutos por NaOH al 30 por ciento. Los bacilos tuberculosos son más resistentes que otras formas vegetativas y muchas esporas a la acción de los álcalis. Esta propiedad de los bacilos tuberculosos se utiliza para obtener de los esputos y de las heces sin contaminación por otras bacterias tratando el material con NaOH del 2 al 4 por ciento durante media hora a 37° C. Los álcalis disuelven la mayor parte de bacterias.

Algunas bases orgánicas son desinfectantes, pero son poco empleadas.

Las combinaciones de los ácidos grasos con el sodio, constituyendo diversos *jabones,* tienen propiedades particulares y valiosas. La acción de los jabones es debida en parte al álcali libre contenido en las preparaciones, a los componentes del jabón y a la reducción de la tensión superficial producida por el jabón, siempre que el grado de disminución de la tensión superficial sea óptimo para la interacción de otros componentes de la mezcla con la substancia bacteriana. Las propiedades antisépticas de los jabones han sido investigadas por Walker, quien comprobó que los estreptococos hemolíticos, y especialmente los neumococos, eran sensibles a los ja-

bones láurico, oleico y linoleico. Larson y Nelson comprobaron que el ricinoleato sódico mataba los estreptococos de la escarlatina y neutralizaba la toxina de esta enfermedad. Estas acciones de los jabones son procesos complejos que dependen del álcali y del radical orgánico producido en la hidrólisis. Eggert, quien investigó diversos derivados de jabones e hidroxijabones, encontró compuestos que tienen una acción germicida relativamente específica sobre los estreptococos hemolíticos, estafilococos, *S. typhosa*, *E. coli* y otros organismos.

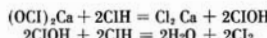
Hampil ha demostrado que los jabones inhiben la acción bactericida de los germicidas fenólicos. Por otra parte, la acción germicida del cloruro mercúrico y otros mercuriales aumenta por la presencia de jabones. Este efecto es más intenso contra *Staphylococcus aureus*. La acción germicida de los mercuriales contra *S. typhosa* y organismos afines no aumenta en las mezclas con jabón.

Agentes oxidantes. Consideramos las substancias que deben su acción desinfectante al oxígeno. El ozono y el oxígeno naciente liberado por diversos compuestos destruye las bacterias. En la práctica, los principales desinfectantes por oxidación son los peróxidos, permanganato potásico, perborato sódico y probablemente los hipocloritos. El *peróxido de hidrógeno* es un desinfectante activo en agua. Los preparados comerciales tienen riqueza variable entre 3 y 30 por ciento de H_2O_2. La solución al 3 por 100 en peso de H_2O_2 de la Farmacopea de EE. UU. (X^a edición) matará las formas vegetativas de las bacterias en pocos minutos, según la cantidad del material inorgánico inerte presente en las mezclas. El *permanganato potásico* es un desinfectante poderoso, pero se combina rápidamente con la materia orgánica inerte. El *perborato sódico*, usado como antiséptico en el tratamiento de algunos tipos de gingivitis, en nuestra opinión, goza de prestigio inmerecido.

Como ha demostrado Neill, muchas toxinas bacterianas pierden su acción cuando se oxidan. En el futuro probablemente se hará mayor uso de los agentes oxidantes en el tratamiento de intoxicaciones bacterianas.

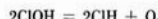
Halógenos. El cloro, el bromo, el yodo y el flúor libres son, en el orden señalado, altamente tóxicos para las bacterias. En la práctica se ha hecho uso principalmente de las propiedades desinfectantes del *cloro* y del *yodo*. Como el ion cloro no es tóxico, la acción desinfectante de los compuestos de cloro depende casi por entero del *cloro* libre que desprenden o, en el caso de los oxácidos, en parte de la oxidación. El gas cloro se usa como desinfectante. Se aplica en gran escala para la *esterilización* del agua de bebida y la purificación del agua de piscinas. Para matar las formas vegetativas de los gérmenes colitíficos debe mantenerse una concentración de cloro libre por lo menos de uno por un millón. Como el cloro se combina rápidamente con la materia orgánica, la existencia de ésta en el agua disminuye su acción. El cloro libre puede añadirse al agua desde los cilindros de gas o derivado de los hipocloritos, como por ej. en forma de *cloruro de cal* (hipoclorito de calcio).

El *cloruro de cal* es probablemente un cuerpo de fórmula Cl_2OCa. La acción de los ácidos, incluso del anhídrido carbónico atmosférico, sobre esta substancia resulta en liberación del cloro. Ejemplo:



$$(OCl)_2Ca + 2ClH = Cl_2\,Ca + 2ClOH$$
$$2ClOH + 2ClH = 2H_2O + 2Cl_2$$

El ácido hipocloroso puede descomponerse también con liberación de oxígeno, como se indica en la ecuación siguiente:



$$2ClOH = 2ClH + O_2$$

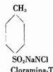
Es concebible que parte del valor desinfectante del cloruro de cal y de los hipocloritos en general dependa en realidad de la fuerte acción oxidante que resulta de esta descomposición. Por otra parte, hay muchas pruebas de que el cloro puede atacar a la molécula proteínica directamente, reemplazando el H de los grupos amínicos, de este modo:



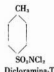
Las cloraminas así formadas parecen ser tóxicas y ocasionan la muerte de las bacterias. El cloruro de cal se disuelve rápidamente en unas veinte partes de agua. Su acción bactericida depende del ácido hipocloroso formado. Después de la precipitación del agua, una dosis eficiente es la de cinco gramos para 4 000 litros. La alta acción germicida del cloruro de cal, junto con su costo relativamente bajo, sugirieron su uso como apósito en las heridas. Las soluciones de hipoclorito cálcido o sódico resultaron demasiado irritantes, debido a la alcalinidad de cualquiera de los preparados disponibles. Se han establecido diferentes métodos para obtener soluciones neutras y relativamente poco irritantes de hipoclorito sódico. La más famosa de ellas es la *Solución de Dakin* que tuvo uso amplio durante la Guerra Mundial de 1914-1918.

Los antisépticos clorados, en general, y en particular los del tipo del hipoclorito, tienen la desventaja de ejercer su acción desinfectante por poco tiempo. La reacción entre la solución de hipoclorito y las proteínas del cuerpo bacteriano o del suero y pus de la herida es casi instantánea, y, ya una vez que tiene lugar, desaparece la acción tóxica del producto. Por lo tanto, al tratar las heridas con estas soluciones es necesario repetir las aplicaciones con intervalos frecuentes o, de otra forma, aplicarlas con algún dispositivo de alimentación continua, de modo que la herida reciba antiséptico constantemente renovado.

Para superar en lo posible esta desventaja, Dakin preparó cierto número de compuestos orgánicos de cloro que eran solubles en aceite y que cedían lentamente el cloro a las secreciones de las heridas, de modo que la acción continuaba por tiempo relativamente largo. La *cloramina-T* (1) y la *dicloramina-T* son los dos compuestos más útiles; estas substancias tienen las siguientes fórmulas:



Cloramina-T



Dicloramina-T

Contienen cloro que reemplaza al hidrógeno en un grupo amino; este cloro se libera lentamente en contacto con el material proteínico. Se usan en solución en aceite, ya como aceite de parafina o de eucaliptol clorado, y se aplican con pulverizador o empapados en gasas.

EUSOL.* La simple neutralización del hipoclorito de calcio con ácido bórico lo hace relativamente poco irritante; con el nombre de eusol, esta solución ha sido muy utilizada.

* Edimburgh University Solution. (N. del T.)

Para la publicación original y algunas posteriores sobre uso de la solución de Dakin y de las cloraminas, remitimos al lector a la Bibliografía que se indica al final del capítulo.

Yodo. Los compuestos de yodo se han usado como desinfectantes durante los últimos cuarenta años. El tricloruro de yodo (Cl_3I) es un desinfectante inorgánico. En solución al 0,1 por ciento mata las formas vegetativas en un minuto; en solución al 1 por ciento, destruye las esporas en cinco a diez minutos. El *yodoformo* (CHI_3) es débilmente antiséptico por sí mismo, pero cuando se introduce en heridas donde están teniendo lugar procesos reductores activos, casi siempre como resultado del desarrollo bacteriano, se libera yodo, que produce intensa acción bactericida. La tintura de yodo, con 7 por ciento de yodo en alcohol de 90° y 5 por ciento de yoduro potásico, es el preparado de yodo más comúnmente usado en la antisepsia profiláctica de las heridas, esterilización quirúrgica de la piel y para tratamiento de algunas infecciones.

Compuestos de metales pesados. Numerosos investigadores han comprobado que los metales pesados en dilución extrema son extraordinariamente tóxicos para los microorganismos, en particular para ciertas algas. Este efecto, llamado *acción oligodinámica* de los metales, ha sido atribuído a los iones metálicos, a fenómenos coloidales de superficie y a radiación. El problema continúa siendo objeto de investigación y debe tenerse presente cuando se usa el agua para soluciones nutritivas o cuando un líquido suspensor para bacterias se extrae de vasijas de cobre o plata.

El *sulfato de cobre* destaca por su eficiencia para prevenir el desarrollo de algas en el agua almacenada. También destruye los bacilos tíficos en veinticuatro horas a concentración del 1 por 400 000. Esta cantidad no hace al agua impropia para bebida.

El *cloruro de cinc* es menos activo que el sulfato de cobre como antiséptico.

Las *sales de oro* son usadas en el tratamiento de la artritis.

Los *compuestos arsenicales*, como el salvarsán, tan importante en el tratamiento de la sífilis, casi no tienen aplicación como desinfectantes contra las infecciones bacterianas de los animales. En forma de verde de París y otras preparaciones arsenicales compuestas, se utiliza extensamente en agricultura y en la industria para inhibir el desarrollo de bacterias y hongos.

El *nitrato de plata* al 1 por 10 000 inhibe el desarrollo de las bacterias. La presencia de cloruros y compuestos orgánicos disminuye grandemente su actividad, por cuanto se forman precipitados insolubles. El nitrato de plata tiene una cuarta parte de la eficacia del cloruro mercúrico. Tiene cierta acción selectiva sobre los gonococos. De aquí que sea instilado sistemáticamente, en solución al 1 por ciento, en los ojos de los recién nacidos como profilaxis contra la oftalmía gonocócica.

El citrato de plata, el lactato de plata y otras proteínas argénticas y preparados de plata coloidal se emplean como antisépticos, particularmente en la profilaxis y tratamiento de la gonorrea. También se usan en el tratamiento de otros tipos de infección de las mucosas de los ojos, nariz y garganta. Acerca de estos y de otros muchos antisépticos se puede encontrar información abundante en las ediciones anuales de la publicación *New and Nonofficial Remedies*, editada por el Consejo de Farmacia y Química de la Asociación Médica Americana. Los preparados orgánicos y coloidales de plata son menos antisépticos que el nitrato de plata, pero mucho menos irritantes. Pilcher y Sollmann los han ordenado según su disociación en iones argénticos y material inerte y su poder antiséptico en la forma siguiente: 1) tipo nitrato de plata; 2) preparados fuertes de proteínas argénticas (protargina fuerte); 3) tipo protargol (proteína argéntica); 4) tipo colargol (plata coloidal estabili-

zada con proteína); 5) tipo argirol (proteína argéntica suave). La sangre, las proteínas y el cloruro sódico disminuyen la acción antiséptica de los compuestos de plata.

El compuesto de mercurio más comúnmente usado es el bicloruro (Cl_2Hg). Durante muchos años se ha utilizado como desinfectante de uso general una solución de bicloruro de mercurio al 1:1 000. Una dilución al 1:50 000 mata algunas bacterias y al 1:100 000 es inhibidora. La mayor parte de las esporas mueren en una hora en una solución al 1: 500. Las soluciones de este compuesto tienen la desventaja de irritar la piel.

Desde 1920 se han sintentizado gran número de compuestos orgánicos de mercurio para uso como desinfectantes. Algunos tienen coeficientes fenol extraordinariamente altos, siendo varios miles de veces más potentes que el ácido fénico. No podemos ocuparnos en detalle de todos ellos, pero hemos de mencionar como representativos del grupo los siguientes: el mercurocromo, el metafén, el mertiolato y el nitrato de fenilmercurio.

El *mercurocromo*, sal disódica de 2:7-dibromo-4-hidroxi-mercuri-fluoresceína, fué introducido en terapéutica por Young, White y Swartz en 1919. Se ha usado extensamente como antiséptico profiláctico, desinfectante de la piel y agente quimioterápico en el tratamiento de muchas infecciones. Son muchas las publicaciones que refieren resultados favorables del uso del mercurocromo; para su revisión no disponemos de espacio suficiente. En nuestra opinión, tales afirmaciones de eficacia no han sido comprobadas, si bien es difícil llegar a una estimación justa del valor de tal compuesto. Nosotros lo colocamos inmediatamente debajo de la tintura de yodo como antiséptico de superficie. La complejidad de los factores que entran en la evaluación de las supuestas propiedades antisépticas del mercurocromo y otros compuestos similares ha sido ilustrada por las investigaciones experimentales de von Oettingen y sus colaboradores. El mercurocromo se aplica generalmente a las heridas en solución al 2 por ciento (véase la serie de publicaciones de Hill).

El *mertiolato*, etilmercuritiosalicilato sódico, que contiene 49 por ciento de mercurio, es un germicida potente para esporas y formas vegetativas de bacterias. Para la esterilización de instrumentos se usa en solución al 1:1 000; para la aplicación a superficies mucosas en diluciones de 1: 5 000 ó 1: 30 000. Powell y Jamieson han estudiado sus propiedades como germicida y como conservador de productos biológicos y han demostrado que utilizado para preservar vacunas mantiene su acción antiséptica por lo menos durante tres años.

El *nitrato de fenilmercurio* es netamente antiséptico *in vivo* e *in vitro*, como han demostrado Weed, Ecker y Birkhaug.

Formaldehido. El formaldehido (HCOH), o metilaldehido, es un gas que se produce fácilmente por combustión incompleta del alcohol metílico. En solución acuosa esta substancia forma un líquido incoloro, de olor picante característico; en esta forma es ampliamente utilizado como conservador para tejidos animales y germicida. Recibe el nombre comercial de *formol*, solución acuosa que contiene del 35 al 40 por ciento del gas y ejerce neta acción bactericida sobre las formas vegetativas en diluciones mayores del 1:10 a 1: 20 (gas formaldehido al 1: 400 a 1: 800). Las esporas del carbunco mueren en formaldehido al 35 por ciento en diez a treinta minutos. A diferencia de los fenoles, la adición de sal a las soluciones de formaldehido no aumenta su eficacia, pero al igual que ellos, la adición de alcoholes etílico y metílico disminuye netamente su poder germicida.

Alcoholes. Los alcoholes etílico y metílico son desinfectantes débiles. Las esporas del carbunco han permanecido hasta cuatro meses en alcohol etílico al 50 por ciento

sin morir. De todas maneras, el alcohol etílico al 50 por ciento mata las formas vegetativas de las bacterias en unos quince minutos. Esta es la concentración más eficaz para el alcohol. La adición de alcohol etílico a soluciones acuosas de cloruro mercúrico aumenta su acción desinfectante. En cambio, disminuye las del fenol y del formaldehido.

Fenol. El ácido fénico (C_6H_5OH) en solución al 1:1 000 inhibe el desarrollo bacteriano y al 1: 100 mata la mayor parte de formas vegetativas de las bacterias en unos veinte minutos. La solución al 5 por ciento, comúnmente usada para desinfección de materiales, instrumentos y excretas, destruye las esporas bacterianas en pocas horas. Este compuesto actúa por su molécula y al parecer no se disocia en forma significativa; o por lo menos su acción desinfectante es muchísimo mayor que su disociación. Su acción no disminuye mucho por la presencia de materia orgánica; la de cloruro sódico la refuerza. Su poder desinfectante se reduce por la presencia de alcohol etílico.

Cresoles. El orto, el meta y el paracresol son compuestos isómeros que difieren solamente en la posición del radical OH y tienen por fórmula ($C_6H_4CH_3OH$); son desinfectantes más potentes que el fenol. Se emplean generalmente en una mezcla conocida con el nombre de *tricresol.* Los cresoles, obtenidos del alquitrán de hulla, emulsionados con jabón verde, se venden bajo los nombres comerciales de *lysol* y *creolina.* El lysol es unas cuatro veces más activo que el fenol y la creolina unas diez.

Tanto el fenol como los tricresoles han sido usados extensamente en concentraciones de 0,5 y 0,15 por ciento, respectivamente, para conservar productos como vacunas y sueros terapéuticos. Según Leake y Voegtlin, no son tóxicos para el hombre en las dosis empleadas, pero hay pruebas de que el tricresol contenido en el suero inyectado por vía raquídea puede aumentar la reacción de las meninges, empeorando el cuadro por la llamada *meningitis química.*

Los tiocresoles han sido sintetizados por introducción del grupo sulfhidrilo (SH—) en su molécula. Estos compuestos se dice que promueven la curación porque el grupo sulfhidrilo estimularía las mitosis de las células tisulares. Al mismo tiempo, actúan como desinfectantes por el efecto antibacteriano del radical cresol. Reimann ha publicado los resultados beneficiosos obtenidos con tiocresoles en el tratamiento de úlceras infectadas.

Hexilresorcinol. Entre 1913 y 1921, Johnson sintetizó una serie de alquilresorcinoles y comprobó un rápido aumento en el poder desinfectante conforme cada serie homóloga iba ascendiendo. La continuación de estos estudios por Leonard demostró que los coeficientes fenol de los compuestos etílico, propílico, butílico, amílico y hexílico eran respectivamente 2, 5, 22, 54 y 72. El hexilresorcinol es un poderoso germicida que mata las formas vegetativas de las bacterias en menos de un minuto (quince segundos). También destruye las esporas después de un contacto algo más prolongado. Se ha empleado como antiséptico bucal, de heridas y urinario. La substancia se puede obtener en forma cristalina; se halla en el comercio en solución al 1:1 000 en agua glicerinada al 30 por ciento.

Leonard y Frobisher han demostrado el paralelismo existente entre el poder desinfectante de los miembros de esta serie homóloga y su capacidad de disminuir la *tensión superficial* del agua en la interfase aire-líquido. Esta propiedad va en aumento hasta el compuesto hexílico. Con las sucesivas adiciones de grupos CH_2 más allá de éste, el poder desinfectante decrece, mientras la capacidad de reducir la tensión superficial sigue intensa. De estos experimentos se ha deducido que hay una relación neta entre el poder desinfectante y la capacidad de disminuir la tensión su-

perficial. En nuestra opinión, esta relación no es de causa a efecto. Algunos reductores de la tensión superficial no son germicidas; soluciones con tensión superficial de 37 dinas por centímetro, tan baja como la del hexilresorcinol comercial, sólo son antisépticos débiles, y una substancia inerte con intenso poder para disminuir la tensión superficial puede desplazar a las substancias antisépticas de la interfase entre la célula bacteriana y la solución compleja que la rodea. Sin duda alguna, la acción de superficie es importante en la desinfección, pero la disminución de tensión superficial es inseparable de otras acciones químicas de gran interés. Por tanto, no se puede decir que una substancia sea desinfectante por el simple hecho de que disminuya la tensión superficial.

Como ya se ha mencionado, los coeficientes fenol en la mayor parte de los desinfectantes orgánicos varían con la longitud de la cadena alquílica de la molécula. El aumento de longitud de la cadena tiende a aumentar la actividad de superficie y el poder germicida hasta cierto punto. Los estudios de Cowles arrojan nueva luz sobre la relación entre el poder germicida de los alcoholes primarios, secundarios y terciarios y los efectos en la tensión superficial. Este autor comprobó que, para los gérmenes estudiados, la tensión superficial corresponde aproximadamente en las diversas diluciones bactericidas de estos alcoholes. Para *S. typhosa* se aproxima a 36 dinas/cm y para *Staphylococcus aureus*, alrededor de 30 dinas/cm. Al pasar de los alcoholes primarios a secundarios y terciarios disminuye bastante regularmente la actividad de superficie. Los resultados de las medidas de Cowles sugieren que el poder bactericida y la capacidad de bajar la tensión superficial siguen cursos paralelos. En opinión de dicho autor esta relación aparente entre tensión superficial y actividad germicida es comprensible si ambas funciones guardan relación con la adsorción.

Colorantes. Como ha señalado Churchman, los colorantes se usan en Bacteriología para hacer visibles a los organismos, poner de manifiesto su estructura, revelar su naturaleza química y modificar su desarrollo. En este capítulo nuestro interés se limita principalmente al último de estos cuatro propósitos. Las anilinas o colorantes del *alquitrán de hulla* tienen afinidades selectivas por los componentes de la célula bacteriana; por tal motivo, aplicados a las bacterias, algunos de estos colorantes inhiben su reproducción. Esta acción inhibidora ha sido llamada por Churchman *bacteriostasis selectiva*. Algunos de estos colorantes también son verdaderos bactericidas.

Los colorantes básicos de trifenilmetano ejercen acción bacteriostática selectiva sobre el 90% de las bacterias grampositivas. El violeta de genciana y colorantes afines (violeta cristal y de metilo) en diluciones tan altas como 1: 200 000 inhiben el desarrollo de *B. subtilis*, pero incluso en concentraciones mucho más altas no tienen acción antiséptica sobre los organismos gramnegativos, como las bacterias del grupo colitífico. El bacilo tuberculoso, aunque grampositivo, no es inhibido por el violeta de genciana al 1:10 000. Los colorantes de la serie de la flavina, acriflavina y proflavina, tienen acción inhibidora sobre las bacterias gramnegativas; actuando también en diluciones altas. Churchman ha observado una acción bacteriostática selectiva *inversora* en el efecto inhibidor de la fucsina ácida sobre *B. anthracis*.

El mecanismo de la acción bacteriostática de los colorantes no se conoce por completo. Churchman cree que actúan principalmente paralizando los mecanismos reproductores sin dañar de otra forma las bacterias y denomina al proceso genesistasis. En varias comunicaciones publicadas desde 1924 a 1930, Stearn y Stearn desarrollaron una teoría química de esta acción basada sobre el comportamiento anfótero de las bacterias. Estos autores concluyen que así como las grampositivas tienen un

punto isoeléctrico más bajo que los organismos gramnegativos, los primeros se combinan más rápidamente con los colorantes básicos y los últimos con los ácidos.

Browning y sus colaboradores han comprobado que los colorantes bacteriostáticos y bactericidas más potentes pertenecen a los grupos del trifenilmetano (violeta de genciana, violeta cristal, fucsina, verde malaquita, verde brillante), la acridina (acriflavina) y las anilquinolinas. Los colorantes orgánicos ácidos son menos eficaces como antisépticos o desinfectantes. Muchos colorantes azoicos tienen también acción antibacteriana manifiesta.

En Bacteriología los colorantes se usan para distinguir y separar los microorganismos. Los colorantes básicos de trifenilmetano, añadidos a los medios de cultivo, inhiben el desarrollo de los organismos grampositivos; los colorantes de acridina, por el mismo mecanismo, inhibirán las bacterias grampositivas. Los medios con colorantes son útiles para aislar los bacilos tíficos de las heces, proteger los cultivos de bacilos tuberculosos, diferenciar los miembros del grupo *Brucella* y para otros fines de los que trataremos en otro lugar.

Respuestas variables de las bacterias grampositivas y gramnegativas. Gram descubrió empíricamente que tratando diferentes bacterias con ciertos colorantes y disolventes en un orden determinado, algunas retenían el color azul, mientras otras perdían la coloración y tomaban el color rojo de contraste. En la técnica usual de tinción, las bacterias son: 1) teñidas con uno de los colorantes de trifenilmetano, como el violeta de genciana o el violeta cristal; 2) sometidas a la acción mordiente con yodo en solución con yoduro potásico; 3) decoloradas con alcohol etílico o acetona; 4) contrastadas con fucsina o safranina diluídas. La técnica de tinción de Gram es útil para la clasificación de las bacterias; los estudios acerca de su modo de acción han puesto de manifiesto algunas diferencias fundamentales entre los organismos grampositivos y los gramnegativos, los cuales pueden explicar las diferentes respuestas de unos y otros a los antisépticos catiónicos y a los colorantes bacteriostáticos.

Los organismos grampositivos que retienen los colorantes azules básicos, tienen puntos *isoeléctricos* alrededor de pH 2,0, mientras que en las bacterias gramnegativas están aproximadamente en pH 5. Sin embargo, Dubos (1946), en una excelente revisión, ha demostrado que la coloración azul o roja de las bacterias es algo más que un simple mecanismo de tinción de un protoplasma ácido con un colorante básico o de un protoplasma menos ácido con un colorante ácido. Este efecto depende en parte de la diferente difusión de los colorantes a través de las membranas citoplásmicas. El yodo mordiente penetra en la célula y en las bacterias grampositivas modifica el colorante azul de manera que difunde con menor rapidez a través de la pared celular en el proceso de decoloración. Tiene mayor significación la presencia de un complejo proteína-ribonucleinato-magnesio en la capa cortical del organismo grampositivo. Una vez separada esta capa por autólisis espontánea o por tratamiento con la enzima ribonucleasa, un microorganismo grampositivo se convierte en gramnegativo.

Con excepción de los cocos gramnegativos, las sulfonamidas son más eficaces en el tratamiento de infecciones causadas por organismos grampositivos. También con excepción de los cocos gramnegativos, la penicilina tiene una acción todavía más limitada a las bacterias grampositivas. La estreptomicina es más general en su acción, pero su eficacia, relativa o absoluta, es más notable contra los bacilos gramnegativos. Tal paralelismo entre las reacciones de coloración y las susceptibilidades específicas a las sulfonamidas y antibióticos son probablemente fortuitas, pero, sin embargo, resultan útiles en clínica.

SULFONAMIDAS

Recordemos que Domagk (1935) fué el primero en publicar la utilidad del prontosil para combatir infecciones experimentales con estreptococo hemolítico y que Tréfouël y col. (1935) demostraron que la sulfanilamida era la parte activa de la molécula. Posteriormente se descubrieron derivados más activos, de los cuales los mejores son la sulfadiacina, la sulfapiracina y la sulfameracina. Para información detallada de las diversas drogas que han sido sintetizadas y de sus acciones respectivas, debe consultarse la monografía de Northey (1948).

En general, se admite que todas las sulfonamidas tienen un modo principal de acción que se describe en términos de *metabolitos antagonistas*. Esta teoría se basa en el hecho de que la célula, para su desarrollo, puede efectuar gran número de síntesis, como por ejemplo, la de núcleoproteínas. Las núcleoproteínas constan de proteína y ácido nucleico y cada uno de estos elementos está constituído por componentes todavía menores. La proteína se compone de 15 a 20 clases diferentes de aminoácidos; y el ácido nucleico está integrado por cierto número de nucleótidos, que a su vez se componen de purinas o pirimidinas, ribosa y ácido fosfórico. Cada una de estas substancias —proteína, aminoácido, nucleótido, purina, etc.— es un *metabolito esencial*, porque participa en una síntesis necesaria para el desarrollo, y dicho desarrollo no puede producirse en su ausencia. Algunos organismos, *E. coli* por ejemplo, son capaces de sintetizar todos sus metabolitos esenciales; a otros se les debe suministrar con el medio uno o más de ellos. El neumococo, por ejemplo, no se desarrollará, a menos de que se suministren aminoácidos. Cuando el metabolito esencial se suministra con el medio nos referimos a él como *factor de desarrollo;* como se ha hecho notar en el capítulo sobre nutrición, algunos de los más importantes factores de desarrollo son aminoácidos; otros son vitaminas.

Fildes (1940) señaló que el concepto de *metabolito esencial* suministra una base racional para interpretar el mecanismo de acción de los agentes quimioterápicos, puesto que explicaría la inhibición del desarrollo por cualquier droga que dificulte el metabolismo normal de un metabolito esencial. Fildes sugirió tres formas en que podría suceder esto (para una revisión general, véase Bernheim, 1946). Estas tres formas son las siguientes:

1. Por oxidación de una substancia que se requiere en forma reducida, como en el caso de la acción del ferricianuro o del azul de metileno.

2. Por combinación molecular que da origen a un producto inactivo, como en el caso del cloruro mercúrico combinado con grupos sulfhidrilos. El ejemplo clásico es el arsénico que, como arsfenamina (salvarsán), se une a los grupos sulfhidrilos.

3. Por disputarse una enzima asociada con un metabolito esencial (ácido *p*-aminobenzoico), como en el caso de las sulfonamidas.

Woods, en 1940, descubrió el notable antagonismo entre las sulfonamidas y el APB (ácido *p*-aminobenzoico) e inmediatamente reconoció la importancia. Lockwood (1938) había observado que la acción inhibidora de las sulfonamidas, comprobada *in vitro*, podía disminuir si se aumentaba la concentración de peptona en el medio de cultivo; otros autores demostraron pronto que los extractos de tejidos y de bacterias tenían una acción similar. Woods, trabajando con un extracto de levadura, concluyó que el APB era el agente activo y lo confirmó ensayando el compuesto sintético. Observó que podía anularse la acción de una concentración determinada de sulfanilamida por adición de APB hasta concentración del 1/25 000; la sulfapiridina requería tanto como 1/5 000. En el efecto inhibidor antagónico, el factor importante era la proporción entre la droga y APB, no la concentración ab-

soluta. Woods sacó la conclusión de que el APB es un metabolito esencial que interviene en un sistema enzimático especial, y que las sulfonamidas inhiben el desarrollo de los gérmenes estableciendo una competencia con él por la enzima. Prácticamente todo el trabajo posterior ha venido a ratificar este punto de vista.

La aplicación satisfactoria del concepto de metabolitos esenciales al campo de la quimioterapia estimuló a muchos investigadores para idear nuevos agentes. Así, por ejemplo, modificando la estructura de diversas vitaminas se esperaba producir inhibidores que tendrían una relación con la vitamina igual a la que posee la sulfonamida con el APB (McIlwain, 1942). Ninguna de estas investigaciones ha producido todavía resultado práctico, pero los conocimientos fisiológicos adquiridos han



FIG. 21. ESQUEMA PARA ILUSTRAR LA SERIE DE REACCIONES IMPLICADAS EN EL MECANISMO DE ACCIÓN DEL PAB O APB (ácido *p*-aminobenzoico) Y LA SA (sulfonamida).

Estas dos substancias compiten en la(s) reacción(es) primaria(s). El efecto de ello sobre las reacciones precedente y subsiguiente se considera en el texto.

sido importantes. Roblin (1946) ha escrito una revisión extensa de los metabolitos antagonistas que, además del APB, incluyen varios aminoácidos, purinas, pirimidinas, histamina, glutatión, tiroxina y seis vitaminas. En la figura 21 se presenta un esquema que explica la mayor parte de los datos disponibles. Es un esquema general que no define reacciones químicas específicas, sino que se refiere más bien a grupos de reacciones cuyos detalles precisos no son conocidos. Está basada en el descubrimiento del APB por Woods (1940), el estudio de los metabolitos esenciales por Fildes (1940) y la definición de los antagonistas secundarios de Harris y Kohn (1941a). De un modo arbitrario, el esquema sólo representa la parte de mecanismo de síntesis de una bacteria cuya función depende del APB.

1. La *reacción primaria* es la reacción o complejo de reacciones que incluyen el APB como substrato, el cual interfiere o compite con las sulfonamidas.

2. Las substancias que participan en la reacción son producidas en las *reacciones precursoras* o son suministradas, como factores de desarrollo, por el medio. Así por ejemplo, el APB mismo es factor de desarrollo para *Clostridia* (Rubbo y Gillespie, 1940), *Brucella* (Green, 1940), *Acetobacter suboxydans* (Lampen y col., 1942), y *Lactobacillus* (Isbel, 1942; Lewis, 1942). Es sintetizado por diversas bacterias (Landy y col., 1943a). La inhibición de la reacción primaria debe originar acumulación de precursores. Tal acumulación ha sido descubierta realmente y el compuesto en cuestión se ha demostrado que era una imidazolcarboxamida (Stetten y Fox, 1945; Shive y col., 1947).

3. Los productos de la reacción primaria intervienen en un grupo de *reacciones secundarias*, ya entre ellos mismos o con substancias producidas por otros sistemas, y dan lugar a productos secundarios. Estos, a su vez, pueden entrar en reacciones terciarias, pero se considera que son consumidos en el proceso de desarrollo. Los productos primarios y secundarios no están sujetos en forma alguna a interferencia por la sulfonamida, ni incluyen necesariamente en su estructura al APB. Tales productos, sin embargo, son las substancias que serán deficientes si la reacción primaria fracasa. En tales circunstancias, su adición al medio compensaría la deficiencia; son llamados *antagonistas secundarios* porque actúan en reacciones secundarias, a diferencia del APB que es un *antagonista primario*.

Se han encontrado muchas substancias que, al parecer, llenan los requisitos para antagonistas secundarios. Desde un punto de vista general, las grandes diferencias metabólicas que distinguen a los géneros permiten suponer que el número y calidad de antagonistas secundarios variará igualmente. Los datos actuales indican que *E. coli*, por ejemplo, difiere de los enterococos y de los lactobacilos. Los principales tipos de substancias implicadas hasta ahora son la metionina (Bliss y Long, 1941; Harris y Kohn, 1941a), purinas (Harris y Kohn, 1941b; Snell y Mitchell, 1942; Shive y col., 1947), serina, glicina y un factor desconocido existente en la peptona y el páncreas (Kohn y Harris, 1943), y la timina (Lampen y col., 1946). Estos tipos de substancias son las responsables de la acción antagónica de los líquidos orgánicos como pus y productos de destrucción tisular (McLeod, 1940).

Como ilustración de la base en que asientan tales conclusiones, debe mencionarse el ingenioso experimento de Lampen, Roepke y Jones (1946). Estos investigadores obtuvieron por rayos X una variante de *E. coli* que requería APB como factor de desarrollo, de modo que la supresión del APB debería ser teóricamente equivalente a la inhibición con sulfonamida. Además, en confirmación de la teoría, los citados investigadores demostraron por experimentación que el mismo tipo de antagonista secundario era activo.

Los tipos de compuestos entre los cuales se halla el APB y su papel en el metabolismo de la célula bacteriana están investigándose. McIlwain (1945) demostró que la sulfonamida no puede desplazar al APB presente con anterioridad o funcionalmente ligado a la célula. La competencia entre la sulfonamida y el APB debe, por lo tanto, ocurrir justamente cuando el *elemento de unión* está disponible. Ratner y col. (1944) aislaron un péptido de la levadura, compuesto de APB y ácido glutámico, que no posee actividad antagónica. El ácido pteroilglutámico (péptido de ácido glutámico, APB y pterina) es inactivo para *E. coli*, pero se comporta como un antagonista primario o secundario para ciertos enterococos y para los lactobacilos (Lampen y Jones, 1947). El ácido pteroilglutámico actúa intensamente sobre la anemia perniciosa; será del mayor interés ver si el estudio del metabolismo bacteriano en este caso proporciona datos relacionados con la investigación de la enfermedad humana.

En conjunto, el esquema ofrece una explicación razonable de los datos obtenidos utilizando las concentraciones terapéuticas usuales de la droga o incluso las inferiores, pero debe tenerse presente que, al menos en parte, es hipotético. Quizá la contradicción más notable a dicha hipótesis es la publicación de Tamura (1944), según la cual el APB no es antagónico de la sulfonamida en los cultivos de *Past. tularensis*. Otra excepción ocurre con *Shigella*, gérmenes con los cuales en circunstancias especiales la sulfapiridina y el sulfatiazol compiten con la nicotinamida (Dorfman y Koser, 1942).

El desarrollo de resistencia a las sulfonamidas es rápido cuando los subcultivos se efectúan en concentraciones crecientes de droga. El desarrollo de tal resistencia no es peculiar de las sulfonamidas, sino que ocurre con otros fármacos y entre los protozoarios. El mecanismo fundamental no está definitivamente establecido; lo estudiaremos más adelante.

Quedan algunos puntos por considerar. Las bacterias relativamente sensibles a las sulfonamidas son inhibidas por concentraciones entre 0,1 y 15 mg por 100 c.c.; ello depende en parte del medio y en parte del fármaco empleado. *In vivo*, la concentración de sangre de 5 a 10 mg por 100 c.c. es buena. Las drogas no inhiben de inmediato, sino después de un período de latencia de cinco a diez divisiones (generaciones), durante el curso del cual la división se detiene gradualmente. Al final de este

período las células no están muertas, y la adición de APB iniciará nuevamente el desarrollo. El curso gradual de la inhibición está de acuerdo con el esquema siguiente; cabe suponer que primero deben agotarse las reservas de productos primarios o secundarios antes que pueda tener lugar la inhibición.

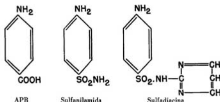


FIG. 22. FÓRMULA DEL ÁCIDO P-AMINOBENZOICO (APB), DE LA SULFANILAMIDA Y DE LA SULFADIACINA.

Los datos físicos relativos a la actividad de las sulfonamidas han sido revisados por Bell y Roblin (1942, 1943) quienes han demostrado que es muy poco probable que puedan descubrirse derivados más eficaces que la sulfadiacina o sulfapiracina (fig. 22).

Lo mismo que el ácido *p*-aminobenzoico, las sulfonamidas son anfolitos. El grupo *p*-amino actúa como base y el grupo amido disocia un ion hidrógeno. Las drogas más potentes son aquellas con pK ácido entre seis y ocho; parece que el anión es el agente activo (Fox y Rose, 1942; Schmelkes y col., 1942).

ANTIBIOTICOS: PENICILINA Y ESTREPTOMICINA

El término *antibiótico* se refiere a una substancia producida por un organismo vivo, la cual, en concentraciones relativamente bajas, mata o perjudica a otros organismos sin dañar a su productor. Tales substancias están ampliamente distribuídas por toda la Naturaleza y juegan papel importante en la regulación de la población microbiana del suelo, agua, alcantarillado y estiércol, así como en el mecanismo de resistencia antiinfecciosa en el hombre. La importancia práctica de la antibiosis entre las bacterias, probablemente fué establecida por vez primera por Pasteur y Joubert (1877) quienes observaron el antagonismo entre *Bacillus anthracis* y otras bacterias en los cultivos. Esto, a la vuelta del siglo, condujo al descubrimiento de la piocianasa, antibiótico soluble en agua obtenido de *Pseudomonas aeruginosa*. Sin embargo, pronto quedó inactivo este campo, y la posibilidad de producir agentes quimioterápicos a partir de los microorganismos no se volvió a tomar en consideración hasta el trabajo de Dubos y Fleming.

Dubos (1939), conocedor de las posibilidades inherentes a los antagonismos bacterianos, empezó la búsqueda de antibióticos para uso clínico por medio de cultivos enriquecidos. De ordinario, el suelo contiene muchas clases de bacterias; para favorecer el desarrollo y desenvolvimiento de los organismos que podrían ser antagónicos de los patógenos, se hicieron con muestras de tierra cultivos *alimentados* de bacterias vivas. Así se aisló un bacilo esporulado grampositivo *(B. brevis)* que, al desarrollarse en cultivo puro, producía un antagonista llamado *tirotricina*. La tirotricina es una mezcla de dos polipéptidos, *gramicidina*, que sólo actúa sobre cocos y

bacilos grampositivos, y *tirocidina*, menos específica, de acción inhibida por las peptonas y el suero (Dubos y Hotchkiss, 1941). Estas substancias resultaron ser tóxicas para el hombre por vía parenteral, pero su descubrimiento y estudio ha sido de la mayor importancia para estimular nuevas investigaciones.

Fleming (1929), por otra parte, partió de una observación casual. Una placa de agar-sangre sembrada con estafilococos se contaminó accidentalmente con un hongo *Penicillium*, y sobre una amplia zona alrededor de la colonia del hongo el desarrollo del estafilococo quedó inhibido. El hongo se identificó al fin como *P. notatum*. Fleming (1929, 1931, 1932) demostró también que un cultivo puro del hongo en medio líquido producía una substancia, *penicilina* que, aun diluída al 1:500, inhibía completamente el desarrollo de ciertos organismos grampositivos, pero no los gramnegativos. También demostró que los filtrados activos eran muy poco tóxicos para los animales y que la penicilina era útil para tratar las heridas sépticas de curso tórpido. El trabajo siguiente pareció demostrar que la penicilina era demasiado inestable para ser aislada y ya no se estudió más el problema hasta que Florey y Chain lo abordaron de nuevo en 1938. Dichos autores y sus colaboradores (Chain y col., 1940; Abraham y col., 1941) ayudados por la Fundación Rockefeller, pudieron aislar la penicilina en forma impura y demostraron su actividad *in vitro* e *in vivo* contra diversos organismos. También registraron notables resultados clínicos en diez casos de infección piógena grave. Fué posible un mayor desenvolvimiento por la cooperación de las instituciones National Research Council, The Rockefeller Foundation, el Departamento de Agricultura y varios laboratorios comerciales; en 1941 se empezó un extenso programa que en unos cinco años ha hecho de la penicilina un fármaco relativamente barato que puede prepararse en forma cristalina.

El éxito logrado con la penicilina ha estimulado la investigación para otros antibióticos y hasta ahora se han aislado unos quince (Waksman, 1945); muy pocos de ellos, sin embargo, son poco tóxicos para empleo en la práctica médica (véase tabla al final del capítulo). Los más prometedores en uso o en curso de investigación, son los que siguen: 1) de los Hongos Imperfectos y Ascomicetos, la penicilina; 2) de los Basidomicetos, ninguno; 3) de los Actinomicetos, la estreptomicina y la cloromicetina; 4) de las bacterias, la tirotricina y la bacitracina. La penicilina y la estreptomicina serán estudiadas más adelante. La *cloromicetina* (Smadel y col., 1947) es de gran interés, porque es activa contra rickettsias y virus. Está en marcha un programa amplio para la investigación clínica de la bacitracina. Otro antibiótico interesante en curso de investigación deriva de un liquen (Marshak, 1947).

La química de la *penicilina* fué resuelta durante la guerra como resultado de los esfuerzos conjuntos de muchos laboratorios de EE. UU. e Inglaterra. Este aspecto, junto con lo referente a métodos de producción comercial, es objeto de una monografía cooperativa en 1948 (*The Chemistry of Penicillin*, Princeton University Press). La fórmula de la penicilina se muestra en la figura 23.

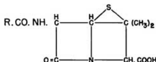


FIG. 23. FÓRMULA GENERAL DE LA PENICILINA.

Se observará que la penicilina tiene un grupo ácido carboxílico libre por el cual se pueden preparar las diversas sales (de Na, Ca, K, etc.). En el otro extremo de la molécula hay un grupo designado R. Las penicilinas F, G, X y K difieren con respecto a R. Los detalles y la nomenclatura se hallan en la tabla adjunta tomada

de la revisión de Kavanagh (1947) que contiene un excelente resumen acerca de penicilinas y otros antibióticos. Las diversas penicilinas difieren en sus propiedades antibióticas y farmacológicas. Según la revisión de Mocre (1947), su potencia, en orden descendente, en el tratamiento de la gonorrea es X, K y G, mientras que en el tratamiento de la sífilis es G, F, X y K.

ESTRUCTURA DE LAS PENICILINAS (CARACTERÍSTICA "R")

Designación		Característica "R"		
Americana	Inglesa	Nombre	Estructura	Producida por
F	I	3-Hexenoico	$CH_3.CH_2.CH{=}CH\ CH_2.CO$-	*P. notatum*
Flavacidina	—	4-Hexenoico	$CH_3.CH{=}CH.CH_2.CH_2.CO$-	*A. flavus*
Dihidro F	—	Caproico	$C_5H_{11}CO$-	*A. giganteus*
G	II	Fenilacético	$C_6H_5CH_2.CO$-	*P. notatum*
X	III	*p*-Hidroxifenilacético	$HO.C_6H_4.CH_2.CO$-	*P. notatum*
K	IV	Caprílico	$C_7H_{15}CO$-	*P. notatum*

(Según Kavanagh, *Advances in Enzymology*, 1947, 7: 478.)

Con el advenimiento de la penicilina cristalizada la dosis pronto se expresará en peso la droga empleada. Hasta el año 1947, sin embargo, sólo se disponía de preparaciones amorfas y la dosis había de ser expresada en unidades Oxford. Una *unidad Oxford* es la cantidad de penicilina que, añadida a 50 c.c. de caldo de carne en condiciones establecidas, inhibe completamente el desarrollo de *Staphylococcus aureus*. Recientemente se ha aceptado como patrón internacional una sal cálcica de penicilina G, de la cual, por definición, *una unidad internacional* son 0,6 *microgramos*. Los materiales oficiales disponibles para el ensayo se pueden obtener en la Administración de Drogas y Alimentos, de Washington, o en el Instituto Lister de Londres (Coghill y col., 1945; Hartley, 1945). La potencia de una penicilina problema se determina comparando su actividad con la de una muestra tipo de penicilina. Se han empleado diversos métodos (Kolmer, 1947), pero aquí sólo mencionaremos el de Lee y col. (1944). El principio de tal método es sencillo. Por ejemplo, se selecciona un patrón que disminuye la velocidad de desarrollo de *S. aureus* en 50 por ciento. La cantidad de material problema necesario para igualar el efecto del patrón se determina en una serie paralela de cultivos.

Los productos designados como penicilina sódica cristalina G deben contener 90 por ciento de G y tener una potencia de, por lo menos, 1 500 unidades por mg (el máximo alcanzado es alrededor de 1 650). Las nuevas unidades internacionales son aproximadamente iguales a las antiguas unidades Oxford. Por eso, 0,6 microgramos en 50 c.c. es la cantidad adecuada para inhibir por completo el desarrollo de *S. aureus*. Refiriéndonos a concentraciones en suero, ello equivale a 1,2 microgramos por ciento o 0,02 unidades por c.c. Esta concentración u otra mayor se mantiene en el adulto administrando por vía intramuscular 20 000 unidades cada tres horas (Kolmer, 1947). Tomando la sensibilidad de *S. aureus* como unidad, la sensibilidad relativa *in vitro* de otras especies, según los datos de Abraham y col. (1941), es la siguiente:

2: *N. gonorrhoeae.*

1: *N. meningitidis, Strept. pyogenes, B. anthracis, Cl. tetani,* y *Cl. perfringens.*

0,6 a 0,1: *Cl. oedematiens* y *Cl. septicum, Strept. viridans, Diplococcus pneumoniae, Corynebacterium diphtheriae.*

0,1 a 0,01: *Proteus vulgaris, Pasturella pestis, Shigella dysenteriae, Brucella abortus, Salmonella sp.*

Por debajo de 0,01: *E. coli, Brucella melitensis, Vibrio comma, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Klebsiella pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis.* Los resultados demuestran que los cocos, grampositivos y gramnegativos, y los bacilos grampositivos son sensibles a la droga *in vitro*. En general, los resultados clínicos son paralelos a los obtenidos por las técnicas *in vitro*; a la lista original de Abraham se ha añadido *Treponema pallidum* (Mahoney y col., 1943).

Los primeros estudios fueron hechos con preparaciones amorfas que contenían cantidades variables de impureza. Los estudios más recientes indican que pueden aislarse de las penicilinas impuras factores *de refuerzo* de la acción antibiótica; uno de éstos, la *penicromina*, ha sido considerablemente purificada por Burk (1947), quien en una serie de experimentos ha demostrado su poderosa acción inhibidora de la respiración de bacterias, tejidos y tumores.

El mecanismo de acción de la penicilina, en términos de metabolismo celular, es desconocido; al respecto se ha logrado mucho menos progreso que con las sulfonamidas. La estructura de la penicilina no proporciona indicación del nivel metabólico en el cual actúa, ni se le han descubierto antagonistas específicos. Todavía se ignora si interfiere con algún metabolito esencial, pero es absolutamente seguro que su acción está íntimamente asociada con los procesos de crecimiento de la célula. En este respecto, la penicilina se parece a las sulfonamidas, en contraste con los desinfectantes clásicos. La acción de la penicilina, sin embargo, es muy diferente de la de las sulfonamidas, pues actúa más rápidamente y es mucho más bactericida. A las concentraciones terapéuticas usuales las sulfonamidas probablemente sólo ejercen acción bacteriostática, excepto quizá en la orina. La penicilina, por otra parte, alcanza en el cuerpo concentraciones bactericidas para un número apreciable de organismos patógenos y es bacteriostática para el resto. Hasta aquí los principales hechos conocidos acerca del modo de acción de la penicilina están de acuerdo con lo dicho y pueden ser resumidos brevemente como sigue:

1. La estructura de la penicilina difiere de la de todo compuesto conocido y no se le conocen antagonistas específicos. Los extractos de tejidos, pus, orina y peptonas no modifican su acción (Abraham y col., 1941). Una *penicilinasa* inactivadora enzimática, descubierta por Abraham y Chain (1940), es producida por gérmenes del grupo colidisentérico y diversos bacilos (Duthrie, 1944). Sin embargo, la sensibilidad de un organismo a la penicilina no está determinada primariamente por la presencia o la ausencia de esta enzima. El desarrollo de resistencia a la droga (v.g., en ciertos estafilococos) puede suponer la producción de penicilinasa (Bondi y Dietz, 1944; Spink y Ferris, 1945).

2. A concentraciones bajas la penicilina es extraída del medio por estafilococos sensibles y, conforme la concentración aumenta, el *aceptor* dentro de las células se satura (Johnson, 1947). En estos experimentos las células resistentes no extrajeron tanta penicilina como las sensibles.

3. La acción inhibidora de la penicilina sobre la respiración y la fermentación no está clara; Chain, Duthrie y Callow (1945) demostraron que el consumo de oxígeno de las células en reposo no disminuía, aunque la inhibición se producía al comenzar el crecimiento. La acción primaria de la penicilina no se ejerce sobre los sistemas respiratorios, aunque éstos se afecten posteriormente.

4. La morfología de las células inhibidas está alterada, con tendencia a producirse formas gigantes, que al parecer son incapaces de división y por último se lisan (Gardner, 1940).

5. Hay cierta relación entre la estructura de las bacterias y la actividad de la penicilina: todas las especies sensibles son cocos o son bacilos grampositivos.

6. La penicilina afecta procesos esenciales para el desarrollo y multiplicación, pero su acción puede tener lugar en ausencia de división celular real, lo cual está en contraste con la acción de las sulfonamidas que no tienen efecto a menos que esté en curso la división. Aunque la división no es condición necesaria, debe estar sucediendo algún tipo de metabolismo *activo;* las esporas son afectadas en medios nutritivos, pero no en medios inertes; las células de cultivos viejos son insensibles en comparación con las de los recientes; las células en medios nutritivos y en frío tampoco son afectadas (Miller y Foster, 1944; Hobby y Dawson, 1944; Chain, Duthrie y Callow, 1945; Gardner, 1945; Knox, 1945).

Concuerda con lo anterior el reciente hallazgo de Gale y Taylor (1947) según el cual *Staphylococcus aureus* tratado por penicilina que sólo deja viables alrededor del 2 por ciento de los gérmenes, es incapaz de asimilar el ácido glutámico, mientras que la asimilación de lisina, respiración endógena y oxidación y fermentación de la glucosa permanecen inalteradas. Este hallazgo indica un trastorno del anabolismo y supone una nueva y probablemente más específica línea de ataque.

El modo de acción de la penicilina *in vivo* depende de sus efectos bacteriostáticos y bactericidas, como hemos indicado antes, actuando junto con las defensas naturales del organismo animal y sujetos a limitaciones como las impuestas por la formación de abscesos, membranas semipermeables y circulación inadecuada. Lo mismo es válido para las sulfonamidas; las principales diferencias radican en la distribución (las sulfonamidas son estables en el conducto gastrointestinal y alcanzan el líquido céfalorraquídeo), la toxicidad (la dosis de sulfamida queda netamente limitada en este respecto) y la vía de administración (la penicilina es más adecuada para administración parenteral). La tendencia a la producción de cepas resistentes es mucho mayor con las sulfonamidas.

La evaluación precisa de la contribución aportada por las defensas naturales actuando al mismo tiempo que la penicilina o sulfonamida no ha sido todavía determinada. Se podría suponer *a priori* que tal factor puede operar en todas las infecciones, si bien en grado variable. La experiencia general en las salas de los hospitales indica con certeza que la quimioterapia es insuficiente cuando fracasan las defensas naturales. Tillett, McCormack y Cambier (1945) han comprobado que pequeñas cantidades de penicilina administradas varias veces al día, pueden ser absolutamente eficaces en la neumonía, probablemente porque actúan junto con los mecanismos naturales de defensa. También observaron que una dosis grande única, dada al principio de la enfermedad, no resulta adecuada, mientras que su administración varios días después produce la curación. La dosis tardía actúa, con toda claridad, cuando la inmunidad específica inducida por la infección ha alcanzado un nivel determinado.

La *estreptomicina* es un antibiótico obtenido del actinomiceto *Streptomyces griseus* que inhibe diversas bacterias gramnegativas y grampositivas (Schatz, Bugie y Waksman, 1944). Este agente es interesante por cuanto permite tratar infecciones causadas por organismos insensibles a la penicilina o las sulfonamidas. La inhibición del desarrollo *in vitro* se obtiene mediante concentraciones entre 0,1 y 10 microgramos por c.c. Todavía faltan datos para poder determinar el papel de la estreptomicina como se ha hecho con las sulfonamidas y la penicilina. Al presente la droga parece prometedora en el tratamiento de infecciones de las vías urinarias y septicemias causadas por bacterias gramnegativas, neumonías por *Hemophilus* y *Klebsiella*, tularemia y tuberculosis (Keefer y col., 1946). Probablemente, el factor

que limitará el uso de la estreptomicina será la rapidez con que se desarrollen cepas resistentes. Su acción no ha sido todavía relacionada con la rapidez o la fase del desarrollo; no es afectada por el suero (Hobby y Levert, 1947).

Resistencia a los agentes quimioterápicos. El desarrollo de resistencia durante una serie de quimioterapia se conoce desde hace tiempo, en especial entre los protozoarios; en ellos se ha demostrado que las capas resistentes no absorben la droga. Numerosas publicaciones atestiguan el desarrollo de esta resistencia en el caso de las sulfonamidas, la penicilina y la estreptomicina, pero los mecanismos correspondientes no son conocidos.

Se sugiere como punto de partida, que el nuevo carácter (resistencia) aparece como consecuencia de una mutación o por la existencia de una enzima adaptativa que puede manifestarse (Capítulo IX). Luria (1946) revisó los pocos datos relativos a esta cuestión. Constituye una dificultad lo poco que se conoce acerca de los mecanismos de genética bacteriana. Los ejemplos de resistencia a la sulfonamida y a la penicilina en cepas de *Staphylococcus aureus* indican que ocurren a manera de mutaciones espontáneas.

Se ha demostrado que durante el período de desarrollo aparecían variantes que poseían una resistencia aumentada. La frecuencia de estas variantes (mutaciones) era independiente de la presencia de la droga en cuestión. El papel de la droga era el de un agente selectivo que favorecía el desarrollo de los individuos resultantes de la mutuación sobre el de los normales. El estudio de diversos datos indica que las cepas resistentes se desarrollan más lentamente que la normal; el desarrollo de la última sobrepasa al de las primeras en ausencia de droga. Se cree que el desarrollo gradual de resistencia a través de muchos subcultivos corresponde a mutaciones sucesivas. Se requiere más trabajo analítico antes que puedan delimitarse los fenómenos que sirven de base a la resistencia. Como las drogas en cuestión pueden actuar como estímulos específicos o como agentes de selección, el planeamiento de los experimentos es complicado; se ha demostrado que la composición de los diversos medios en los que tienen lugar la adaptación y la comprobación puede tener gran influencia sobre los resultados (Harris y Kohn, 1943).

Cualesquiera que sean las bases fundamentales de las alteraciones, se describirán en relación con los mecanismos fisiológicos y bioquímicos corrientes. Hasta ahora se han observado los tres siguientes:

1. Incapacidad de la penicilina de penetrar ciertas cepas de estafilococos resistentes (Johnson, 1947).

2. Aumento de la producción de APB por algunas cepas de estafilococos resistentes, pero no por todas (Landy y col., 1943).

3. Reajustes metabólicos para utilizar el inhibidor estreptomicina como metabolito esencial. Este hallazgo extraordinario se puede describir como "la venganza de la bacteria" y plantea cierto número de cuestiones teóricas muy interesantes.

Los trabajos de Miller (1947) y de Kushnick y col. (1947), como los resultados inéditos de Bohnhoff y de Paine y Finland, demuestran que existen dos tipos de resistencia producida por la estreptomicina en *N. meningitidis*, *Ps. aeruginosa*, *B. subtilis*, *E. coli* y otros. En el primer tipo el germen se hace resistente pero no muestra otra alteración notable aparte de la velocidad de desarrollo. Los subcultivos repetidos en presencia de la droga dan por resultado el desarrollo gradual de resistencia. En el segundo tipo, el microorganismo desarrolla repentinamente gran resistencia y requiere la estreptomicina como un factor de desarrollo. Mientras que la cepa original es inhibida por 5 microgramos de estreptomicina por c.c., la variante, que se reproduce pura, requiere por lo menos 25 a 50 microgramos para el desarrollo y

alrededor de 500 para el crecimiento máximo y la morfología normal. A concentraciones bajas hay pleomorfismo neto y tendencia a producirse formas filamentosas gigantes que en ocasiones muestran cuerpos globulares intensamente teñidos. Los animales infectados con cepas virulentas que requieren estreptomicina mueren a menos que se suspenda el tratamiento con dicho antibiótico. En estas circunstancias la estreptomicina funciona como metabolito esencial; cabe, pues, deducir que en la célula normal la estreptomicina compite con un metabolito esencial de estructura similar a la suya. Una ligera alteración en la especificidad del sistema enzimático correspondiente vuelve inactivo el metabolito normal esencial y permite que la estreptomicina funcione en su lugar.

El desarrollo de resistencia durante la terapéutica y la perpetuación subsiguiente de tales cepas, es una posibilidad que debe tenerse presente al evaluar cualquier agente quimioterápico. El hecho de que la resistencia pueda desarrollarse *in vitro* no supone necesariamente que habrá de producirse en clínica, porque existe la posibilidad de que la variante, aunque más resistente a la droga, puede ser más sensible a las defensas orgánicas naturales (Miller y Bohnhoff, 1945). El desarrollo lento de resistencia, poco a poco, hace que probablemente no sea de importancia. La experiencia clínica con penicilina indica que la resistencia *in vivo* es poca o nula; con las sulfonamidas y la estreptomicina, se han observado resistencias intensas.

ANTIBIÓTICOS
De bacterias

AGENTE	ORIGEN	ESFERA DE ACTIVIDAD	TOXICIDAD	PROPIEDADES Y USO
Bacilina Foster y Woodruff (1946)	*Bacillus subtilis*	Gram +	Tóxica	Termoestable. Hidrosoluble. Inactivada por la sangre.
Bacitracina Johnson, Anker y Meleney (1945)	*Bacillus subtilis*	Gram + *Clostridia* *N. gonorrhoeae*	No tóxica	Hidrosoluble. Estable. Tópica. Infecciones locales en el hombre.
Diplococcina Whitehead (1933)	*Streptococcus*	Gram +	No tóxica I.V. y S.C.	Proteína. Hidrosoluble.
Eumicina Johnson y Burdon (1946)	*Bacillus subtilis*	Hongos *M. tuberculosis* *C. diphtheriae*	Baja para ratones	Elementos hemolíticos. Contiene substancia estimulante.
Hemipiocianina Schoental (1941)	*Pseudomonas aeruginosa*	Hongos	Baja	Hidroxifenacina
Iodinina McIlwain (1943)	*Chromobacterium iodinum*	Gram + y — *C. diphtheriae*		Hidrosoluble. Compuesto de púrpura de fenacina. Ligeramente soluble.
Ftiocol Lichstein y Van de Sand (1946)	*Mycobacterium tuberculosis*	Gram + y —		Pigmento soluble.

ANTIBIÓTICOS *(Continuación)*

De bacterias (Continuación)

AGENTE	ORIGEN	ESFERA DE ACTIVIDAD	TOXICIDAD	PROPIEDADES Y USO
Prodigiosina Wrede y Rothbaas (1945)	*Serratia marcescens*	Carbunco		Termoestable. Hidrosoluble.
Piocianasa Emmerich y Löw (1899)	*Pseudomonas aeruginosa*	Gram + y — *C. diphtheriae*	Toxicidad variable	Termoestable.
Piocianina Wrede y Strack (1924)	*Pseudomonas aeruginosa*	Gram + Hongos	Alta	Hidrosoluble. Termoestable. Pigmento azul.
Simplexina Cordon y Haenseler (1939)	*Bacillus simplex*	Hongos		Termoestable.
Subtilina Jansen y Hirschmann (1944)	*Bacillus subtilis*	Gram + y —	No tóxica	Hidrosoluble. Fotosensible. Compuesto inestable.
Tirotricina Dubos (1939)	*Bacillus brevis*	Gram +	No tóxica tópicamente	Ligeramente soluble y estable. Polipéptido.
Tirocidina Hotchkiss y Dubos (1941)	*Bacillus brevis (Tyrothrix sp.)*	Gram + y —	Tóxica. Uso tópico	Ligeramente soluble y estable. Polipéptido.
Gramicidina Dubos y Hotchkiss (1941)	*Bacillus brevis (Tyrothrix sp.)*	Gram +	No tóxica. Tópica. Toxicoparenteral	Ligeramente soluble. Estable. Polipéptido.
Gramicidina S (Gramicidina soviética) Gause y Brazhnikova (1944)	*Bacillus brevis* (Cepa G-B)	Gram + y — *Clostridia*	Moderada parenteralmente. No tópicamente	Igual que la anterior.

De actinomicetos

AGENTE	ORIGEN	ESFERA DE ACTIVIDAD	TOXICIDAD	PROPIEDADES Y USO
Actidiona Whiffen (1947)	*Streptomyces griseus*	Levaduras No bacterias		Difiere de la estreptomicina en que es soluble en éter.
Actinomicina A. Waksman y Woodruff (1940)	*Actinomyces antibioticus*	Gram + y — Hongos	Alta	Pigmento rojo nitrogenado. Baja solubilidad. Termoestable.
Actinomicina B. Waksman y Woodruff (1940)	*Actinomyces antibioticus*	Gram +	Alta	Altamente soluble en agua. Incolora.

ANTIBIÓTICOS *(Continuación)*

De actinomicetos (Continuación)

AGENTE	ORIGEN	ESFERA DE ACTIVIDAD	TOXICIDAD	PROPIEDADES Y USO
Actinomicetina Gratia y Dath (1924)	*Actinomyces* sp. *albus*	Lítica	No tóxica	No es un verdadero antibiótico. Enzima.
Cloromicetina Ehrlich y col. (1947)	*Streptomyces* sp.	Gram + y — *M. tuberculosis* Rickettsias Virus	Baja toxicidad	Hidrosoluble. Estable.
Griseina Waksman (1947)	*S. griseus*	*M. tuberculosis*	Baja	Hidrosoluble.
Nocardina Emmart (1947)	*Nocardia coeliaca*	*M. tuberculosis* Humano y bovino	Baja	Termoestable. Hidrosoluble.
Proactinomicina Gardner y Chain (1942)	*Proactinomyces* sp. *gardineri*	Gram + *Neisseria*	Tóxica	Hidrosoluble. Base orgánica. No pigmentada.
Estreptomicina Schatz, Bugie y Waksman (1944)	*Streptomyces griseus*	Gram — y + *M. tuberculosis*	Baja	Hidrosoluble. Estable. Base orgánica.
Estreptotricina Waksman y Woodruff (1942)	*Streptomyces lavendulae*	Gram + y — *M. tuberculosis* Grupo de *Salmonella* colitíficas	Baja por vía bucal. Alta parenteralmente	Base hidrosoluble. Contiene nitrógeno.

De hongos

Acido aspergílico White y Hill (1943)	*Aspergillus flavus*	*Cl. perfringens* Gram + y —	Neurotóxico para el ratón	Acido monobásico. Sal Na soluble. Gangrena gaseosa en cobayos.
Aspergilina Soltys (1944)	*Aspergillus fumigatus*	Gram + y — *M. tuberculosis*	No tóxica	Pigmento negro. Termoestable.
Citrinina Hetherington y Raistrick (1931)	Cepas de *Aspergillus* y *Penicillium*	Gram +	Baja	Acido monobásico. Ligeramente soluble. Sal sódica soluble.
Clavacina Waksman, Horning y Spencer (1942)	*Aspergillus clavatus*	Gram + y — Hongos	Moderada	$C_7H_6O_4$ hidrosoluble. Sal Na inestable.
Claviformina Chain, Florey y Jennings (1942)	*Penicillium claviforme*			Idénticas a la clavacina.

ANTIBIÓTICOS *(Continuación)*
De hongos (Continuación)

AGENTE	ORIGEN	ESFERA DE ACTIVIDAD	TOXICIDAD	PROPIEDADES Y USO
Flavacidina McKee y col. (1943)	*Aspergillus flavus*	Gram +	Ligeramente tóxica S.C.	Inestable. Soluble. Neumonía en ratones.
Flavacina Bush y Goth (1943)	*Aspergillus flavus*	Gram +	Tóxica	Acido orgánico. Inestable. Hidrosoluble. Neumonía en ratones.
Fumigacina Waksman, Horning y Spencer (1942) Vaudremer (1913)	*Aspergillus fumigatus*	Gram +	Baja	Acido monobásico. Sal Na soluble.
Fumigatina Anslow y Raistrick (1938)	*Aspergillus fumigatus*	Gram +		Estructura conocida. Inestable. Soluble.
Acido gigántico Wilkins y Harris (1942)	*Aspergillus giganteus*	Gram +		Similar a la penicilina
Gliotoxina Weindling y Emerson (1936)	*Aspergillus gliocladium*	Gram + Hongos	Alta	Compuesto cíclico inestable conteniendo azufre. Ligeramente soluble.
Glutinosina Brian y McGowan (1946)	*Metarrhizium glutinosum*	Hongos		Inhibe la germinación de las esporas.
Acido helvólico Chain, Florey y col. (1943).	*Aspergillus fumigatus* mut.	Gram + Bacilo gaseoso	Baja en el ratón	Acido monobásico. Sal Na soluble.
Javanicina Arstein, Cook y Lacey (1946)	*Fusarium javanicum*	*Mycobacteria Staphylococci*	No tóxica	Quinona.
Acido micofenólico Gosio (1896)	*Penicillium*	Gram + y —	Baja	
Notatina (Penicilina B) Coulthard y col. (1942)	*Penicillium notatum*	Gram + y — *Br. abortus*	Baja	Estable. Hidrosoluble. Enzima. Brucelosis tratada en cobayos.
Patulina Raistrick y col. (1943)	*Penicillium patulum*	Gram + y — Hongos		Idéntico a la clavicina.

ANTIBIÓTICOS *(Continuación)*

De hongos (Continuación)

AGENTE	ORIGEN	ESFERA DE ACTIVIDAD	TOXICIDAD	PROPIEDADES Y USO
Penatina Kocholaty (1942)	*Penicillium notatum*	Gram + y — *Br. abortus*	Baja	Estable. Hidrosoluble. Enzima. Brucelosis tratada en cobayos.
Penicilina Fleming (1929)	*Penicillium notatum y chrisogenum* *Aspergillus flavus*	Gram + *Treponema pallidum*	No tóxica	Acido orgánico complejo. Inestable. Termolábil. Hidrosoluble.
Acido puberúlico Birkinshaw y Raistrick (1932)	*Penicillium puberulum*	Gram +		Hidrosoluble. Acido dibásico.
Acido penicílico Alsberg y Black (1913)	*Penicillium puberulum*	Gram + y —	Baja.	Hidrosoluble. Acido monobásico.
Espinulosina Oxford y Raistrick (1942)	*Penicillium spinulosum*	Gram + y —		Quinona
Viridina Brian y McGowan (1945)	*Trichoderma viride*	Hongos	Ligeramente tóxica	Hidrosoluble. Estable en medio ácido.
De hongos superiores				
Clitocibina Hollande (1945)	Setas	Gram + y — *M. tuberculosis*	Moderada	Hidrosoluble. Tuberculosis experimental en el cobayo.
De liquen				
Ramalina, cristales Marshak (1947)	*Ramilina reticulata*	Micobacterias del estiércol Neumococo Estreptococo *M. tuberculosis*	Tolerada vía subcutánea por cobayos	$C_{16}H_{14}O_6$. Insoluble en agua. Emulsión en aceite para infección tuberculosa de cobayos.
De algas				
Clorellina Pratt y col. (1944)	*Algae*	Gram + y —		
De plantas verdes				
Clorofila Willstäter y Hug (1911)	Plantas verdes	Gram + y — Débil	No tóxica. Ligera actividad I.V.	Diéster metilfítílico. No estable. Tópico para infección superficial.

ANTIBIÓTICOS *(Continuación)*

De plantas superiores

AGENTE	ORIGEN	ESFERA DE ACTIVIDAD	TOXICIDAD	PROPIEDADES Y USO
Alicina Cavallito y Bailey (1944)	Ajo	Gram + Grupo disentérico	Moderada	Inestable.
Canavalina Farley (1944)	Soja	Gram + y —	Baja I.V. en el hombre	Hidrosoluble. Neumonía en el hombre.
Iuglone	Nogal negro (hojas-cáscaras)	Hongos	No tópicamente tóxico parenteralmente	5 -hidroxi, 1-4 naftoquinona.
Onion phytoncide Tonkin, B. (1944) Kohman (1947)	Cebollas	Gram + y — Protozoarios	No tóxica tópica ni por vía bucal	Volátil. Inestable.
Tomatina Irving, Fontaine y Doolittle (1945)	Plantas de tomate verde	Hongos	Tóxica parenteralmente	Insoluble en agua.
WRC* extracto Southam (1946)	*Thuja plicata* (Cedro Rojo del Oeste)	Gram + y — Hongos	No tóxica I. V. Conejos	Termoestable. Inactivado por la sangre.
Lactenina Jones y Simms (1930)	Leche	De animales Gram +		Proteína estable.
Lisozima Fleming (1922)	Tejidos animales. Clara de huevo.	Gram +		Hidrosoluble. Enzima termoestable.

* WRC, iniciales inglesas de Western Red Cedar (Cedro Rojo del Oeste). (N. del T.)

BIBLIOGRAFIA

ABRAHAM, E. P., and CHAIN, E. *Nature*, 1940, 146:837.
———FLETCHER, C. M. GARDNER, A. D., HEATLEY, N. G., JENNINGS, M. A., and FLOREY, H. W. *Lancet*, 1941, 2:177.
ALSBERG, C. L., and BLACK, O F. *U. S. D. A. Bull.*, No. 270, 1913.
ANDERSON, J. F. and MCCLINTIC, R. B. *J. Infect. Dis.*, 1911, 8:1.
———*Hygienic Lab. Bull.* No. 82, 1912. Véase también: *U. S. Public Healt Rep.*, 1921, 36:1559.
ANSLOW, W. K., and RAISTRICK, H. *Biochem. J.*, 1938, 32:687.
ARSTEIN, H. R. V., COOK, A. H., and LACEY, M. S. *Nature*, 1946, 157:333.
BELL, P. H. and ROBLIN, R. O., JR. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1942, 64:2905; *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1943, 44:449.
BERNHEIM, F. *The Interaction of Drugs and Cell Catalysts*, Minneapolis, 1946.
BIRKINSHAW, J. H., and RAISTRICK, H. *Biochem. J.*, 1932, 26:441.
BLISS, E. A., and LONG, P. H. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1937, 60:149.
BONDI, A. J., JR. and DIETZ, C. C. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1944, 56:135.
BRANHAM, S. *J. Infect. Dis.*, 1929, 44:142.
———*J. Bacteriol.*, 1929, 18:247.
BRIAN, P. W., and MCGOWAN, J. C. *Nature*, 1945, 156:144.
———*Nature*, 1946, 157:334.
BROWNING, C. H. *Applied Bacteriology*, London, 1918. Para una relación sucinta véase: *System of Bacteriology in Relation to Medicine*, London, 1930, 1:202-206.
BUCHANAN, R. E., and FULMER, E. I. *Physiology and Biochemistry of Bacteria*, Baltimore, 1928, 2:192-556.

Bürgi, E., and Laubenheimer. *K. Handb. d. path. Mikroorganismen*, Kraus and Uhlenhuth, Edited by Kolle, Berlin, 1931, Volume III, Chapter XIV, p. 835; Chap. XV, p. 987.
Burk, D. A. A. S., *Symposium on Antibiotics*, 1947.
Bush, M. T., and Goth, A. *J. Pharm. Exp. Therap.*, 1943, 78:164.
Carrel, A., Dakin, H. D., *et al. Rev. d'hyg.*, 1915, 37:1016.
——and Dehelly, G. *Treatment of Infected Wounds*, New York, 1917.
Cavallito, C. L., and Bailey, J. H. *Science*, 1944:100:390.
——*J. Amer. Chem. Soc.*, 1944, 66:1950.
Chain, E., Duthrie, E. S. and Callow, D. *Lancet*, 1945, 1:652.
——Gardner, A. D., Heatley, N. G., Jennings, M. A., Orr-Ewing, J., and Sanders, A. G. *Lancet*, 1940, 2:226.
——and Jennings, M. A. *Brit. J. Exp. Path.*, 1942, 23:202.
——and Williams, T. I. *Brit. J. Exp. Path.*, 1943, 24:108.
Churchman, J. W. *J. Exper. M.*, 1912, 16:221, 822; 1913. 17:373.
——*J. Exper. M.*, 1923, 36:1; 37:543.
——*Newer Knowledge of Bacteriology and Immunology*, Chicago, 1928, Chap. III, 19-37.
Chick, H. *A System of Bacteriology in Relation to Medicine*, London, 1930, 1:Chap. V, p. 178.
Coghill, R. D., Veldee, M. V., and Herwick, R. P. *Science*, 1945, 101:24.
Colebrook, L., and Kenny, M. *Lancet*, 1936, 1:1279; 2:1319.
——Buttle, L. A. H., and O'Meara. R. A. Q. *Lancet*, 1936, 2:1323.
Cordon, T. C., and Haenseler, C. M. *Soil Science*, 1939, 47-207.
Coulthard, G. E. *et al Nature*, 1942, 150:134.
Cowles, P. B. *Yale J. Biol. and M.*, 1938, 11:127.
Dakin, H. D. *Brit. M. J.*, 1915, 2:315.
——and Dunham, E. K. *Handbook of Antiseptics*, New York, 1917.
Domagk, G. *Deutsche Med. Wchnschr.*, 1935, 61:250.
Dorfman, A., and Koser, S. A. *J. Infectious Diseases*, 1942, 71:241.
Dreser, H. *Ztschr. f. exper. Path. u. Therap.*, 1917, 19:285.
Dubos, R. *J. Exper. M.*, 1929, 49:575.
——*Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1939, 40:311; *J. Exp. Med.*, 1939, 70:1 & 11.
——*The Bacterial Cell*, Harvard Univ. Press. Cambridge, Mass., 1946.
——and Cattaneo, C. *J. Exp. Med.*, 1939, 70:249.
——and Hotchkiss, R. D. *J. Exp. Med.*, 1941, 73:629.
Duthrie, E. S. *Brit. J. Exp. Path.*, 1944, 25:96.
Eggert, A. H. *J. Exper. M.*, 1929, 49:53; 1929, 50:299; 1931, 53:27.
Ehrlich, J., *et. al. Science*, 1947, 106:417.
Emmart, E. W. Report, Antibiotic Study Section, Wash., D. C., 1947.
Emmerich, R., and Löw, O. *Ztschr. f. Hyg. u. Infectionskrankh.*, 1889, 31:1.
Fabian, F. W., and Winslow, C.-E. A. *J. Bacteriol*, 1929, 18:265.
Falk, I. S., and Winslow, C.-E. A. *J. Bacteriol.*, 1926, 11:1.
Farley, D. L. *Surg. Gyn. and Obst.*, 1944, 79:83.
Feirer, W. A., and Leonard, V. *Surg., Gynec. & Obst.*, 1928, 47:488.
Ficker, M. *Ztschr. f. Hyg.*, 1898, 29:1
Fildes, P. *Lancet*, 1940, 1:955.
Fleming, A. *Proc. Roy. Soc. London*, 1922, 93:306.
——*Brit. J. Exp. Path.*, 1929, 10:226.
——*J. Path, and Bact.*, 1932, 35:831.
——and McLeon, I. H. *Brit. J. Exp. Path.*, 1930, 11:127.
Foster, J. W., and Woodruff, H. B. *J. Bacteriol.*, 1946, 51:363.
Fox, C. L., Jr. and Rose, H. M. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1942, 50:142.
Frobisher, M. *J. Bacteriol.*, 1927, 13:163.
Gale, E. F., and Taylor, E. S. *J. Gen. Microbiol.*, 1947, 1:314.
Gardner, A. D. *Nature*, 1940, 146:837.
——*Lancet*, 1945, 1:658.
——and Chain, E. *Brit. J. Exp. Path.*, 1942, 23:123.
Gause, G. F., and Brazhnikova, M. G. *Nature*, 1944, 154:703.
Gosio, B., 1896, in Florey, H. W. *Brit. M. J.*, 1945, 2:635.
Gratia, A., and Dath, S. *C. R. Soc. Biol.* 1924, 91:1442.
Green, H. N. *Brit. J. Exp. Path.*, 1940, 21:38.
Hampil, B. *J. Bacteriol.*, 1928, 16:287.
——*Am. J. Hyg.*, 1931, 13:623.
Harris, J. S., and Kohn, H. I. *J. Pharm.*, 1941a, 73:383.
——*J. Biol. Chem.*, 1941b, 141:989.
——*J. Immun.*, 1943, 46:189.
Hartley, P. *Science*, 1945, 101:637.
Hetherington, A. C., and Raistrick, H. *Phil. Trans. R. Soc.*, 1931, B, 220:269.
Hill, J. H., *et al. Johns Hopkins Hosp. Bull.*, 1923, 34:220, 372; 1929, 44:40; *Arch. Int. Med.*, 1925, 35:503; *J.A.M.A.*, 1929, 92:111.
Hobby, G. L., and Dawson, M. H. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1944, 56:178-181.

——— and LEVERT, T. F. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1947, 65:42.
HOLLANDE, A. C. *C. R. Acad. Sci.*, 1945, 221:361.
HOTCHKISS, R. D. and DUBOS, R. J. *J. Biol. Chem.*, 1941, 141:155.
IRVING, G. W., et. al. *Science*, 1945, 102:9.
ISBEL, H. *J. Biol. Chem.*, 1942, 144:567.
JANSEN, E. F., and HIRSCHMANN, D. J. *Arch. Biochem.*, 1944, 4:297.
JOHNSON, B. A., ANKER, H., and MELENEY, F. L. *Science*, 1945, 102:376-377.
JOHNSON, E. A., and BURDON, K. L. *J. Bact.*, 1946, 51:591.
JOHNSON, M. J. *A. A. A. S., Symposium on Antibiotics*, 1947.
JOHNSON, T. B., and LANE, F. W. *Am. J. Chem.*, 1921, 43:348.
JONES, F. S., and SIMMS, H. S. *J. Exp. Med.*, 1930, 51:327.
JORDAN, E. O., RUSSELL, H. L., and ZEIT, F. R. *J. Infect. Dis.*, 1904, 1:641.
KAVANAGH, F. *Advances in Enzymology*, 1947, 7:461.
KEEFER, C. S., et al. *J.A.M.A.*, 1946, 132:470.
KNAYSI, G. *J. Infect. Dis.*, 1930, 47:303, 322, 328.
KNOX, R. *Lancet*, 1945, 1:559.
——— *Mitt. a.d. Kaiserl. Gesndhtsamte*, 1881. I.
KOCHOLATY, W. *J. Bact.*, 1942, 44:469.
———*Science*, 1943, 97:186.
KOHMAN, E. F. *Science*, 1947, 106:625.
KOHN, H. I., and HARRIS, J. S. *J. Pharm.*, 1943, 77:1.
KOLMER, J. A. *Principles and Practice of Chemotherapy*, Philadelphia, 1926. Véase especialmente Part II, pp. 48:190.
———*Penicillin Therapy*, Appleton Century Co., 2nd. ed., New York, 1947.
KRÖNIG, B., and PAUL, T. *Ztschr. f. Hyg.*, 1897, 25:1.
KUSHNICK, T., RANDLES, C. L., GRAY, C. T., and BIRKLAND, J. M. *Science*, 1947, 106:587.
LAMPEN, J. O., and JONES, M. J. *J. Biol. Chem.*, 1947, 170:123.
———ROEPKE, R. R., and JONES, M. J. *J. Biol. Chem.*, 1946, 164:789.
———UNDERKOFLER, L. A., and PETERSON, W. H. *J. Biol. Chem.*, 1942, 146:277.
LANDY, M., LARKUM, N. W., and OSWALD, E. J. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1943a, 52:338.
———and STREIGHTOFF, F. *Science*, 1943b, 97:265.
———and STREIGHTOFF, F. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1943, 52:127.
LARSON, W. P., and NELSON, E. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1925, 23:357.
LEAKE, J. P., and COBBITT, H. B. *Hyg. Lab. Bull.*, No. 110, 1917. U. S. Pub. Health Service.
LEONARD, V. *J. Urol.*, 1924, 12:585.
———*J.A.M.A.*, 1924, 83:2005.
———and FEIRER, W. A. *Dental Cosmos*, 1927, 69:882.
———and FROBISHER, M. *Tr. Am. Ass. Genito-Urin. Surg.*, 1925, 18:333.
LEE, S. W., FOOLEY, E. J., EPSTEIN, J. A., and WALLACE, J. H. JR. *J. Biol. Chem.*, 1944, 152:485.
LICHSTEIN, H. C. and VAN DE SAND, V. F. *J. Bact.*, 1946, 52:145.
LEWIS, J. C. *J. Biol. Chem.*, 1942, 146:441.
LOCKWOOD, J. S. *Ann. of Surg.*, 1938, 108, 801.
———*J. Immunol.*, 1938, 35:155.
LURIA, S. E. *Cold Spring Harbor Symposia*, 1946, 11: 130.
MAHONEY, J. F., ARNOLD, R. C., and HARRIS, A. *Venereal Dis. Inform.*, 1943, 24:355; *Amer. J. Public Health*, 1943, 33:1387.
MARSHAK, A. *Public Health Reports*, 1947, 62:1.
MCCULLOCH, E. C. *Desinfection and Sterilization*, 2nd. ed., Lea and Febiger, Philadelphia, 1945.
MCILWAIN, H. *Lancet*, 1942, 1:412.
———*Biochem. J.*, 1943, 32:265.
———*Biochem. J.*, 1945, 39:329.
MCKEE, C. M., RAKE, G., and HOUCK, C. L. *J. Bact.*, 1943, 47:187.
MCLEOD, C. M. *J. Exp. Med.*, 1940, 72: 217.
MELLON, R. R., GROSS, P., and Cooper, F. B. *Sulfanilamide Therapy of Bacterial Infections*, Springfield, 1938.
MILLER, C. P. *J.A.M.A.*, 1947, 135:749.
———and BOHNHOFF, M. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1945, 60:354.
———and FOSTER, A. Z. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1944, 56:205.
MOORE, J. E. *A.A.A.S. Symposium on Antibiotics*, 1947.
NEILL, J. M. *J. Exper. M.*, 1926, 44:199, 215, 227, 241.
NORTHEY, E. H. *The Sulfonamides and Allied Compounds*, Reinhold Publishing Co., N. Y., 1948.
OXFORD, A. E., and RAISTRICK, H. *Chem. and Ind.*, 1942, 61:128.
PASTEUR, L., and JOUBERT, J. *Compt. Rend. Acad. Sci.*, 1877, 85:101.
PATTERSON, A. M. *Am. J. Pub. Health*. 1932, 22:465.
PETERSON, J. B. *J.A.M.A.*, 1926, 87:223.
PILCHER, J. D., and SOLLMANN, T. *J. Lab. & Clin. M.*, 1922-23, 8:301;1923-24, 9:256.
POWELL, H. M., and JAMIESON, W. A. *Am. J. Hyg.*, 1931, 13:296; 14:218.
———*Proc. Indiana Acad. M.*, 1937, 46, 66.
PRATT, R., et al. *Science*, 1944, 99:351.

Raistrick, H., *et. al. Lancet*, 1943, 2:625.
Ratner, S., Blanchard, M., Coburn, A. F., and Green, D. E. *J. Biol. Chem.*, 1944, 155:689.
Reddish, G. F. *Am. J. Pub. Health*, 1927, 17:320.
——*J. Lab. & Clin. M.*, 1929, 14:649.
——*Newer Knowledge of Bacteriology and Immunology*, Chicago, 1928, Chap. XXII, 301-309.
Reichel, H. *Handb. d. path. Mikroorganismen.*, ed. by W. Kolle, R. Kraus, and P. Uhlenhuth. Berlin, 1931, 3:Chap. XIV, p. 835.
Reid, J. D. *Am. J. Hyg.*, 1932, 16:540.
Reimann, S. P. *J.A.M.A.*, 1930, 94:1369.
——*Am. J. Cancer*, 1931, 15:2149.
——*Ann. Surg.*, 1931, 93:624.
Rideal, S., and Walker, J. T. A. *J. Roy. San. Inst.*, 1903, 24:424.
——*Approved Technique of the Rideal-Walker Test*, London, 1921.
Roblin, R. O., Jr. *Chem. Rev.*, 1946, 38:255.
Rubbo, S. D., and Gillespie, J. M. *Nature*, 1940, 146:838.
Schatz, A., Bugie, E., and Waksman, S. A. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1944, 55:66.
——and Waksman, S. A. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1945, 31:129.
Schmelkes, F. C., Wyss, O., Marks, H. C., Ludwig, B. J., and Strandskov, F. B. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1942, 50:145.
Schoental, R. *Brit. J. Exp. Path.*, 1941, 22:137.
Shaughnessy, H. J., and Winslow, C.-E. A. *J. Bacteriol.*, 1928, 15:69.
Shippen, L. P. *Am. J. Pub. Health*, 1928, 18:1231.
Shive W., Ackermann, W. W., Gordon, M., Getzendaner, M. E., and Eakin, R. E. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1947, 69:725.
Smadel, J. E., and Jackson, E. B. *Science*, 1947, 106:418.
Smith, L., Drennan, A., and Campbell, W. *Brit. M. J.*, 1915, 2:129.
Snell, E. E., and Mitchell, H. K. *Arch. Biochem.*, 1942, 1:93.
Soltys, M. A. *Nature*, 1944, 154:550.
Southam, C. M. *Proc. Soc. Biol. & Med.*, 1946, 61:391.
Spink, W. W., and Ferris, V. *Science*, 1945, 102:221.
Stearn, A. E., and Stearn, E. W. *J. Bacteriol.*, 1924, 9:491; 1930, 19:133.
Stetten, M., and Fox, C. L., Jr. *J. Biol. Chem.*, 1945, 161:333.
Tamura, J. T. *J. Bact.*, 1944, 47:529.
Taylor, H. D., and Austin, J. H. *J. Exper. M.*, 1918, 27:155.
Taylor, H. G. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1943, 52:299-301.
Tillett, W. S., McCormack, J. E., and Cambier, M. J. *J. Clin. Invest.*, 1945, 24:589, e informes personales.
Tonkin, B. *Am. Rev. Soviet Med.*, 1944, 1:237.
Tréfouël, J., Tréfouël, Mme. J., Nitti, F., and Bovet, D. *C. R. Soc. Biol.*, 1935, 120:756.
U. S. Dept. of Agriculture, Circular No. 198, 1931.
Vaudremer, A. *C. R. Soc. Biol.*, 1913, 74:278-752.
Voegtlin, C. *Hyg. Lab. Bull.* No. 112, 1918, U. S. Public Health Service.
Von Oettingen, W. F. *J.A.M.A.*, 1932, 99:127.
Waksman, S. A. *Microbial Antagonisms and Antibiotic Substances*, 2nd ed., Commonwealth Fund. New York, 1947.
——Horning, E. S., and Spencer, E. L. *J. Bact.*, 1942, 45:233.
——Horning, E. S., and Spencer, E. L. *Science*, 1942, 96:202.
——and Schatz, A. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1945, 31:208; *J. Amer. Pharm. Assoc.* (Scientific Edition), 1945, 34:273.
——Woodruff, H. B. *J. Bact.*, 1940, 40:581.
——Woodruff, H. B. *J. Bact.*, 1942, 44:373.
Walker, J. E. *J. Infect. Dis.*, 1923, 32:287: 1924, 35:557; 1926, 38:127.
Weed, L. A., and Ecker, E. E. *J. Infect. Dis.* 1931, 49:440; 51:309; 52:354.
Weindling, R., and Emerson, O. H. *Phytopath.*, 1935, 26:1068.
Whiffen, A. J. *J. Bact.*, 1947, 54:41.
White, E. C., and Hill, J. H. *J. Bact.*, 1943, 45:433.
Whitehead, H. R. *Biochem. J.*, 1933, 27:1793.
Wilkins, W. H., and Harris, G. C. M. *Brit. J. Exp. Path.*, 1942, 23:166.
Winslow, C.-E. A., and Brooke. O. R. *J. Bacteriol.*, 1927, 13:235.
——and Dolloff, A. F. *J. Bacteriol.*, 1928, 15:67.
——and Falk, I. S. *J. Bacteriol.*, 1923, 8:215.
——and Fleeson, E. H. *J. Gen. Physiol.*, 1926, 8:195.
Woods, D. D. *Brit. J. Exp. Path.*, 1940, 21:74.
Wrede, F., and Rothhaas, A. *Ztschr. f. Physiol. Chem.*, 1945, 226:95.
——and Strack, E. *Ztschr. f. Physiol. Chem.*, 1924, 140:1.
Young, H. H., Scott, W. W., and Hill, J. H. *J. Urol.*, 1924, 2:237.
——White, E. O., and Swartz, E. O. *J.A.M.A.*, 1919, 73:1483.

CAPITULO VIII

ECOLOGIA BACTERIANA Y FLORA DEL ORGANISMO NORMAL

ECOLOGIA BACTERIANA

La Ecología es el estudio de la relación mutua entre organismos y medio ambiente. En ocasiones es posible limitar este estudio a la determinación de las reacciones entre un organismo y sus medios físico y químico. En la mayor parte de los casos, sin embargo, hay en el medio elementos animados e inanimados. El medio ambiente de un organismo es producto tanto de la presencia y actividades de otros seres vivos como de substancias químicas inanimadas y de fuerzas físicas. Esto ocurre especialmente en el caso de las bacterias, las cuales se presentan en la Naturaleza casi siempre asociadas con otras bacterias, con hongos y con animales y plantas. Es natural y lógico, por tanto, aplicar el término Ecología al estudio de los fenómenos generales y especiales inherentes a las relaciones mutuas entre bacterias y organismos vivos y a la relación mutua entre bacterias y elementos inanimados que las rodean.

Habitat. Las bacterias se hallan en todas aquellas partes en las cuales las condiciones permiten la existencia de organismos vivos. Como estas condiciones son diversas y los organismos varían en uno u otro factor, tienden a vivir de preferencia en ciertos lugares, en regiones geográficas y en los cuerpos animados e inanimados, según las condiciones de humedad, existencias de alimentos, temperatura y muchas otras condiciones. El organismo se adapta a cierto medio o encuentra uno favorable a su existencia. En este sentido amplio, el término *habitat* se puede aplicar con propiedad a los sitios de permanencia de las especies y poblaciones bacterianas. Debe reconocerse, sin embargo, que el término se ha usado en Bacteriología con mucha amplitud y que, en muchos casos, sólo se le puede dar importancia secundaria. Se encuentra como apartado en todas las clasificaciones de bacterias. Refiriéndose a algunas de las tendencias erróneas en taxonomía bicteriológica, Hall se ha opuesto a la importancia atribuída al habitat como criterio para identificar o clasificar las bacterias o cualquier otro elemento vivo.

No obstante, es conveniente agrupar a las bacterias según su habitat, pues el conocimiento general de la flora de cualquier región de la tierra o atmósfera o de animales y plantas ayuda a la orientación.

Como hay bacterias que se encuentran en el *aire*, dícese generalmente en relación con tales organismos, que el aire es su habitat, pero en realidad las bacterias no se multiplican en él. Existen en la atmósfera como esporas o formas vegetativas de cierta resistencia a la desecación. Los organismos comunes del aire son aerobios esporulados, esporas de hongos, cocos resistentes y bacilos. Las formas cromógenas son comunes en el aire. Como las bacterias circulan en el aire junto con el polvo o van a parar a él por las espiraciones violentas de los animales, se pueden encontrar en el aire, en localidades diferentes, diversos grupos de organismos. La microbiología de las capas atmosféricas superiores ha sido objeto de estudio especial para los bacteriólogos, quienes han trabajado en cooperación con Lindbergh y otros aviadores.

En 1935 Proctor hizo tomas y cultivos a alturas de 6 000 metros o más y encontró que el aire a estas altitudes es vehículo para la transmisión de muchos tipos de organismos comunes del agua y el suelo. Las bacterias patógenas no sobreviven mucho tiempo en el aire; en la mayor parte de los casos probablemente sólo resisten unas pocas horas.

El *suelo* es el habitat de muchos organismos. Algunos llegan a él con los excreta o en los cadáveres de los animales; otros, como las numerosas bacterias autotróficas, actinomicetos y hongos, son autóctonos. Esta población vasta y compleja ha sido descrita, tanto como su conocimiento lo permite, por Waksman y otros autores. Los bacilos esporulados del carbunco y del tétanos pueden permanecer con vida en el suelo durante años.

El *agua*, en estado natural, es el habitat de muchas clases de microorganismos, desde las sulfobacterias a los patógenos para el hombre. Las bacterias patógenas, sin embargo, sólo suelen estar presentes en aguas directamente contaminadas por fuentes humanas. Las fuentes más importantes de contaminación son las excreciones urinaria y fecal del hombre. Los bacilos tíficos y disentéricos y los vibriones del cólera pueden permanecer con vida por períodos de tiempo relativamente largos en manantiales, charcas y pozos; pueden, incluso, multiplicarse en estas aguas si disponen de una cantidad suficiente de elementos orgánicos nutritivos. La purificación de las fuentes de agua potable ha eliminado muchos de los peligros de contaminación. Pero la fiebre tifoidea transmitida por el agua ocurre aún en comunidades de EE. UU. y el cólera de origen hídrico persiste en la India. El germen *E. coli* común, no patógeno, persiste en el agua más tiempo y con mayor facilidad que los elementos patógenos del grupo de las bacterias intestinales. Por tanto, en el examen bacteriológico del agua se busca *E. coli* y se usa como índice de contaminación fecal. Como no dedicaremos una sección a la bacteriología del agua, para información sobre el tema se pueden consultar textos especiales de higiene y salubridad.[1]

Los *animales* constituyen el habitat de numerosas variedades de bacterias. Las relaciones así establecidas son de la mayor importancia en Bacteriología.

Holman, en un resumen acerca de *asociaciones bacterianas*, ha reunido muchos ejemplos de relaciones entre bacterias diversas. Cuando diferentes tipos de bacterias concurren en el mismo medio o localidad, una puede impedir el desarrollo o anular los efectos de la otra, en una relación conocida como *antagonismo*. En contraste con ello, dos o más grupos de bacterias pueden actuar juntas en relación *sinérgica*, produciendo un resultado que una especie sola no habría podido ocasionar. La sinergia bacteriana da lugar a alteraciones químicas importantes en los substratos. Su importancia en las infecciones mixtas con toda probabilidad también es grande. Pero los estudios de etiología, al separar una especie como causa de una enfermedad, ha descuidado la investigación de las infecciones mixtas más complicadas. Las bacterias pueden vivir en los organismos superiores sin causarles daño ni recibir beneficio especial. Tales relaciones son ejemplos de *comensalismo*. En ocasiones las bacterias ayudan a las actividades de sus huéspedes y obtienen beneficios de alimento y protección en una verdadera *simbiosis*. Finalmente, las bacterias tienen una relación de *parasitismo* con los organismos superiores, perjudicando a sus huéspedes en grado variable. Estas relaciones afectan a ambos organismos en la asociación, provocando alteraciones adaptativas y quizá variaciones cíclicas y mutaciones. Las bacterias han sido agentes activos en la selección natural del hombre y de animales y plantas.

[1] Para métodos de examen bacteriológico del agua, véase: *Standard Methods for the Examination of Water and Sewage*, publicado por Public Health and American Water Assoc. de Nueva York y revisado periódicamente.

Sinergia. En 1923, Kämmerer introdujo el término sinergia para designar las actividades asociadas de dos o más especies de bacterias actuando sobre un substrato único. El resultado producido, en su caso la formación de urobilina a partir de los pigmentos biliares, fué mayor del que una u otra de las especies podría producir por separado. Estamos de acuerdo con Holman al preferir este término al de simbiosis para designar estas asociaciones bacterianas menos íntimas. Hay muchos ejemplos de sinergia, desde las actividades comunes de organismos de la misma especie hasta los efectos acumulativos de organismos asociados de especies muy diferentes. Churchman y Kahn demostraron que si bien una célula única no se desarrollaba en presencia de violeta de genciana, treinta células podían iniciar el desarrollo. Estas treinta células lograron mucho más de treinta veces lo que una célula podría realizar. Los aerobios, al consumir el oxígeno del medio que los contiene, permiten multiplicarse a los anaerobios. Castellani ha descrito muchos procesos fermentativos sinérgicos, como, por ejemplo, la producción de gas a partir de maltosa, mannita y sorbita por un cultivo mixto de *P. morganii* y *S. typhosa*, aunque ninguno de estos organismos aislados produce cantidades apreciables de CO_2 con estos carbohidratos. Entre las muchas condiciones necesarias para lograr este resultado, una de las más importantes *parece ser que el bacilo agregado, aunque inerte sobre estos compuestos particulares debe ser capaz de fermentar la glucosa con producción de gas.* [2] La producción de gas por sinergia bacteriana fué también investigada por Holman en el año 1926.

El conocimiento de la sinergia bacteriana en los cultivos y en el suelo armoniza con los conocimientos, tanto antiguos como recientes, acerca de infecciones mixtas. Es evidente, como Castellani ha indicado, que la tendencia de la Medicina científica desde Pasteur y Koch ha sido hacia la monoetiología de la enfermedad. La concepción de que una enfermedad infecciosa tiene una etiología única, en general es demasiado estrecha; hay muchas infecciones que resultan de actividades sinérgicas de diferentes variedades de microbios. La angina de Vincent es un ejemplo de la acción combinada de espiroquetas y bacilos fusiformes. Como Douglas y sus colaboradores ha ndemostrado, en las heridas infectadas los estreptococos y los organismos anaerobios pueden proliferar mucho más rápidamente cuando se desarrollan junto con diversas clases de organismos. Seitz ha descrito muchos ejemplos adicionales de infecciones mixtas y secundarias, cuyo curso indica la importancia de la acción sinérgica de las bacterias; ha estudiado también la relación entre estreptococos y bacilo diftérico en la producción de la difteria. Los estudios de diversas enfermedades por virus, influenza, cólera del cerdo, sarampión y otras enfermedades infecciosas han indicado, como señala Dochez, que la invasión secundaria es de gran importancia. Probablemente el aumento de estreptococos, estafilococos y bacilos de la influenza en la nasofaringe, observado por Webster, cuando hay infección más o menos grave de las vías respiratorias superiores, es otro caso de sinergia de significación en patología humana.

Comensalismo. Con este término nos referimos a la asociación mutua, pero casi carente de importancia, entre bacterias y organismos superiores. Las bacterias del intestino pueden clasificarse como comensales. Al parecer, no son esenciales para la vida de las moscas (Pearl), y probablemente tampoco lo son para el hombre. Se admite que las condiciones de una existencia estéril resultan tan rigurosas que hasta el presente no es posible decir si la imposibilidad de mantener un animal en condiciones *asépticas* es debida a falta de bacterias en su intestino o a las graves

[2] A. Castellani, *J.A.M.A.*, 1926, 87:15.

restricciones impuestas por el ambiente y los alimentos esterilizados. Existen numerosas bacterias saprófitas de la piel de los animales las cuales deben ser consideradas como comensales.

Simbiosis. La palabra se aplica con propiedad a una relación de beneficio mutuo entre dos organismos. Es más íntima que la sinergia; cuando se emplea en Bacteriología debe limitarse a la relación en la cual la bacteria obtiene beneficio de su residencia en un organismo superior y éste se beneficia de su compañera bacteriana. Tales relaciones son raras. La relación entre las bacterias fijadoras de nitrógeno en los nódulos radiculares de legumbres y éstas es ejemplo de simbiosis entre plantas y bacterias. Los microorganismos intracelulares de algunos insectos viven en simbiosis con sus huéspedes. Wallin y Portier han sugerido que existe una relación similar entre hombre y microorganismos. Es cierto que los organismos intracelulares conocidos como *Rickettsiae* existen en relación simbiótica con insectos y crustáceos, pero no se ha demostrado una relación semejante en el hombre. No estamos convencidos por las pruebas presentadas por Wallin de que las bacterias estén en simbiosis con las células de los vertebrados. Algunos virus filtrables aparecen en simbiosis en las células de animales y plantas.

Buchner ha descrito numerosos ejemplos de simbiosis intracelular, pero no registra ningún ejemplo claro de la asociación entre el hombre y las bacterias. La simbiosis, de hecho, casi siempre es algo perjudicial para una de las partes. En realidad, constituye un tipo de infección.

Parasitismo. Las bacterias capaces de vivir y multiplicarse dentro del cuerpo humano son llamadas *parásitos,* en contraste con la multitud de microorganismos llamados *saprófitos,* los cuales, aunque incapaces de vivir en las condiciones ambientales existentes en los tejidos de los animales superiores, llevan una existencia dura en los materiales muertos del suelo, agua, excreta, cadáveres y productos inanimados. La separación no es en modo alguno tajante y comporta otros factores que el uso de estos términos no siempre da a entender. Por regla general, los parásitos son mucho más exigentes que los saprófitos en cuanto a requerimientos nutritivos y de temperatura en condiciones artificiales de cultivo.

Las bacterias presentan todas las fases de un parasitismo evolutivo. Entre los parásitos estrictos y los saprófitos hay un grupo amplio de bacterias al que pertenecen la mayor parte de las variedades patógenas. Estas bacterias, capaces de un desarrollo lujuriante sobre muchas clases de substratos artificiales, así como en tejidos animales, suelen denominarse parásitos facultativos.

Theobald Smith publicó en 1921 un excelente estudio acerca del parasitismo como factor de enfermedad. En él se señala que los fenómenos de la enfermedad de interés para el médico son principalmente epifenómenos de un parasitismo evolutivo y que tienden a disminuir y desaparecer conforme el parasitismo se acerca a un balance o equilibrio biológico. Las acciones rápidas y destructivas de algunos microorganismos son la expresión de un parasitismo torpe. El parásito diestro o bien adaptado penetra en el huésped, vive por largos períodos de tiempo en los tejidos a expensas del huésped y puede producir lesiones destructivas sólo como medio de asegurarse una salida para ocupar un nuevo destino en otro huésped. Según su relación con el animal, Theobald Smith ha descrito cuatro fases críticas en el ciclo de vida del microbio: "*a)* su entrada al organismo a través de los tejidos protectores; *b)* su transporte y multiplicación en ciertos tejidos; *c)* su salida de los tejidos y del huésped; *d)* su paso a un nuevo huésped."

Al adoptar el hábito parasitario las bacterias pierden numerosas características, al paso que desarrollan algunas cualidades especiales. Los parásitos tienen procesos

metabólicos menos variados que sus parientes parásitos facultativos o saprófitos. Los miembros parásitos de una especie tienden a producir trastornos serológicos idénticos y a localizarse electivamente en los mismos tejidos. Así, los bacilos tíficos constituyen un grupo más homogéneo, con capacidades fermentativas más restringidas que los paratíficos; éstos, más resistentes, son algo menos heterogéneos en todas sus propiedades que los gérmenes de tipo coli-aerogenes con los cuales están relacionados.

En el Capítulo XI continuaremos el estudio de los factores fundamentales de poder patógeno e infección. Es esencial conocer las características generales del parasitismo para conocer las causas y el tratamiento de la enfermedad transmisible. Desde un punto de vista práctico, ello abre la posibilidad de romper el ciclo parasitario en uno u otro de sus puntos críticos.

Si bien hemos venido considerando principalmente las relaciones entre bacterias parásitas y hombre, no deseamos ocultar la importancia de los parásitos bacterianos de los animales inferiores. Algunos de estos parásitos están adaptados en forma estricta a sus huéspedes animales; otros, como los microorganismos del tétano, carbunco, tuberculosis, muermo, peste, fiebre ondulante, rabia y otras enfermedades, pasan rápidamente de los animales al hombre. Hull, Meyer y muchos otros autores han descrito los reservorios de enfermedad en animales inferiores. La patología veterinaria y la humana tienen mucho en común. Se han hecho grandes adelantos por la experimentación en animales; además, muchos conocimientos aplicables al curso de las infecciones en el hombre se adquirieron observando la historia natural de la enfermedad en los animales inferiores, en sus manifestaciones esporádicas y endémicas.

Quien trabaje en bacteriología médica no puede olvidar las infecciones *espontáneas* de sus animales de laboratorio (Meyer). Los cobayos (Holman) tienen seudotuberculosis, infecciones por bacilos paratíficos, linfangitis caseificante por estreptococos. Los conejos contraen infecciones respiratorias y septicémicas, debidas principalmente a *Pasteurella cuniculicida*. Los ratones y ratas pueden infectarse naturalmente por bacilos de tipo paratífico, bacilos de Friedländer y otros gérmenes. Estos procesos suministran material abundante para el estudio, pero también complican muchas técnicas experimentales.

FLORA BACTERIANA DEL ORGANISMO HUMANO NORMAL

Al estudiar las bacterias patógenas es de considerable importancia tener una idea clara de las características morfológicas y culturales de las formas que suelen encontrarse en diferentes partes del cuerpo humano en condiciones normales.

Las superficies y cavidades del cuerpo que comunican con el mundo exterior contienen siempre un número considerable de bacterias representantes de una amplia variedad de especies. Algunas pueden ser comensales en relación con una región determinada del cuerpo; otras pueden ser invasoras accidentales y temporales, miembros de grupos patógenos que, por virulencia reducida de las cepas o por aumento de la resistencia del individuo, no son capaces de causar la correspondiente infección específica.

Tales condiciones pueden ser causa de conclusiones etiológicas erróneas y hacen en extremo difícil investigar la causa de enfermedades en piel, boca, intestino y otras localizaciones. Lo mejor consiste en referirse a cada localización en particular.

Piel normal. Las superficies expuestas del organismo recogen muchos cocos y bacilos saprófitos. La mayor parte sólo interesan al bacteriólogo principalmente por

las molestias que causan al contaminar los cultivos hechos a partir de lesiones de la piel, o de productos como sangre, obtenidos por punción a través de la misma; sin embargo, hay varios tipos que requieren atención especial para diferenciarlos de los patógenos. *Bacillus subtilis*, el aerobio común esporulado de las infusiones de polvo y de heno, se parece al bacilo del carbunco en ciertas fases de desarrollo. Las características de cultivo, el tipo de endosporas, la motilidad y la falta de poder patógeno lo distinguen de *Bacillus anthracis*. Debe procederse con cautela al identificarlos si se observa la forma de bacilos vistos en los frotis teñidos de lesiones superficiales. Los *estafilococos* blancos y amarillos son comunes en la piel; pueden producir lesiones, llevando una existencia de tipo de comensal en los pliegues, poros de glándulas sudoríparas y folículos pilosos de la piel. Cuando se lesiona la piel pueden proliferar en abundancia y producir lesiones como abscesos de los puntos de sutura, forúnculos y, a veces, infecciones piógenas graves. Los bacilos *difteroides*, algunos de los cuales se asemejan estrechamente en morfología al diftérico, son habitantes constantes de la piel. Finalmente, se encuentran en la piel normal *Mycobacteria* no patógena, bastones ácidorresistentes semejantes al bacilo tuberculoso, particularmente en regiones donde se acumulan las secreciones sebáceas, como en las axilas y a nivel de los genitales.

Boca y faringe normales. La boca y faringe albergan numerosas bacterias. La saliva no es buen medio de cultivo; en realidad, puede, según algunos investigadores, mostrar ligero poder inhibidor y aun bactericida, pero, en el mejor de los casos, no es muy potente. Así, pues, la saliva constituye la base de un medio líquido que suministra agua como disolvente y una reacción adecuada para muy diferentes bacterias.

La descamación del epitelio, los dientes cariados, las partículas alimenticias, etc., suministran el material nutritivo adecuado. La inflamación catarral, que raramente falta por completo, favorece el alojamiento de las bacterias en las mucosas. Las secreciones y exudados acumulados a nivel del borde de las encías ofrecen condiciones favorables para el desarrollo bacteriano.

A la vista de estos hechos, es sorprendente que los traumatismos accidentales, tan frecuentes, de las encías y de las mucosas bucal y faríngea rara vez originen infecciones graves y que cicatricen con tanta rapidez. Éste es un hecho que todavía no está bien explicado.

Con frecuencia se aislan *estafilococos* de la boca de individuos que parecen normales. Suelen ser de la variedad *albus*, pero no es infrecuente encontrar también *Staphylococcus aureus*.

De los *estreptococos*, la variedad *viridans* casi siempre está presente. El aislamiento de un tipo viridans a partir de procesos inflamatorios de la boca y garganta tiene, por tanto, una significación muy poco precisa, a menos que se obtenga de una lesión cerrada, como un absceso dentario, o que se puedan aducir otras pruebas confirmatorias de importancia. La variedad *hemolítica* se encuentra con menor frecuencia en la boca normal, pero puede estar presente sin causar enfermedad. De todas formas, el aislamiento de una variedad hemolítica de la faringe o de una amígdala inflamada es frecuente que tenga significación por existir una relación etiológica; es bien sabido que muchas de las inflamaciones graves de esta localización son producidas por gérmenes de tipo hemolítico.

En exámenes hechos hace muchos años, el 30 por ciento de la gente examinada alojaba *neumococos* en su boca, en una u otra ocasión, en el curso de los meses fríos. Desde entonces, la determinación del tipo de neumococo ha permitido comprobar que los neumococos presentes en la boca pertenecen con gran frecuencia al grupo IV y a los tipos *más altos*. En las investigaciones de Dochez y Avery, descritas en otro

lugar, se comprobó que este tipo sólo causaba alrededor de 9,8 por ciento de las neumonías, pero se encontraba con gran frecuencia en bocas normales. Los otros tipos más virulentos pueden encontrarse también en la boca normal, pero suelen presentar contactos recientes con casos de neumonía o estados transitorios de portador. Esto, al menos, es lo que admiten los autores antes mencionados; probablemente, hoy por hoy, no se pueda establecer una afirmación precisa y concluyente al respecto por la dificultad de descubrir los contactos y seguir la pista del origen de los gérmenes.

De los cocos grampositivos saprófitos no son raros *Micrococcus candicans* y micrococos formadores de pigmento.

Gaffkya tetragena es un habitante muy frecuente de la boca; de hecho, se ve con la mayor frecuencia al trabajar sistemáticamente en cultivos de Löffler para diagnóstico de la difteria.

De los micrococos gramnegativos hay una variedad considerable que, sin ser patógenos, pueden cultivarse de la boca y garganta y crean confusión en los exámenes de portadores de meningococos. El más común es el *Neisseria catarrhalis*, que se describe en otra sección y se puede distinguir del meningococo por su mayor desarrollo, su crecimiento a la temperatura ambiente y su incapacidad de fermentar la glucosa y maltosa. *Neisseria flava*, que frecuentemente ha inducido a error al efectuar análisis similares, es un coco gramnegativo formador de pigmento que se encuentra con frecuencia en la garganta, que se desarrolla a la temperatura ambiente y en la mayor parte de los casos aglutina con suero normal de caballo. Otro germen que forma colonias muy secas, *Neisseria sicca*, se aisla con frecuencia, pero se reconoce fácilmente. Además de éstos, Elser y Huntoon han descrito tres grupos de organismos cromógenos similares, encontrados casi siempre en boca y garganta. Con éstos no se agotan probablemente todos los posibles cocos gramnegativos que pueden aislarse de esta localización, pero en realidad son los únicos de importancia para cerciorarse, al efectuar un examen en el hombre, si se trata de verdaderos meningococos, *Neisseria catarrhalis*, u otros saprófitos.

Desde luego, los verdaderos *meningococos* se encuentran frecuentemente en gargantas normales o ligeramente inflamadas en fase de portador; nos referiremos a ello extensamente en otro lugar. Aquí señalaremos que cuando estos organismos están presentes suelen localizarse en la parte alta de la faringe, cerca de la bóveda; el éxito de la investigación en portadores depende del cuidado de alcanzar con el asa el lugar conveniente y de la selección del medio apropiado para el cultivo.

La boca contiene una amplia variedad de bacilos en todas ocasiones. Sin embargo, son pocos los que pueden producir confusión al bacteriólogo, a no ser algunos difteroides. *C. pseudodiphthериticum* y *C. xerose* pueden estar presentes sin papel patógeno alguno. Se describen en otra sección. Los otros *difteroides*, mayores y más irregulares, no son raros; se distinguen con facilidad de los verdaderos bacilos de la difteria por su aspecto y caracteres de cultivo.

Bacilos grampositivos en cadena y variedades grandes netamente saprófitas pueden presentarse en bocas muy sucias, pero no ofrecen dificultades para el bacteriólogo.

De los bacilos gramnegativos pueden estar presentes *proteus, aerogenes* y miembros especiales del grupo *Friedländer*. Hemos conocido un hombre que tenía habitualmente cultivos positivos de *Friedländer* en su boca sin que nunca sufriera trastorno alguno por su presencia.

El *bacilo fusiforme*, descrito en otra sección en relación con la angina de Vincent, casi siempre se encuentra entre las encías y los dientes en bocas sucias con dientes

cariados o con inflamación gingival. Una observación que hacemos casi todos los años con nuestros estudiantes es la siguiente: si se pasa una asa de platino entre la base del diente y la encía, en los frotis de cierto número de casos se pueden ver espiroquetas y bacilos fusiformes, elementos generalmente asociados a la angina de Vincent.

Espirilos y *espiroquetas* casi siempre están presentes. Verdaderos *treponemata* (clasificación de Noguchi) se encuentran casi siempre en las mismas localizaciones descritas para los bacilos fusiformes y también en las mucosas, especialmente cuando hay pequeñas zonas de necrosis. Los más frecuentes son las grandes espiroquetas de la angina de Vincent, *Borrelia vincentii*. También se observan con mucha frecuencia *Treponema macrodentium* y *microdentium,* clasificados así por Noguchi. Estos organismos se observan mejor en campo obscuro, pero se pueden teñir en los frotis con fucsina fenicada o violeta de genciana concentrados. Es importante hacer notar que la variedad *microdentium* es morfológicamente muy similar a *Treponema pallidum;* en el examen en campo obscuro de lesiones sifilíticas de la boca y garganta debe tenerse muy presente esta similitud. Hemos tenido casos en los cuales no nos hemos atrevido a establecer diagnóstico preciso por disponer sólo de estos datos.

La boca normal también puede contener miembros del tipo *Leptotrichia.* Uno de éstos, *Leptotrichia buccalis* de Miller, se considera característico de la flora bucal.

Nariz y senos nasales. Como el aire está constantemente pasando en uno y otro sentido durante la respiración, la mucosa nasal debe ser lugar favorable para numerosos microorganismos. Las variedades de bacterias que se han de encontrar en la nariz, deben corresponder, por tanto, a las que lleguen con el aire inhalado.

La bacteriología de la nariz merece mayor atención que la que se le ha prestado, por cuanto las infecciones de los senos nasales y de los procesos que las originan están siendo reconocidos de máxima importancia para la salud general. Los antiguos investigadores sostuvieron que el paso de las bacterias con el aire hacia los órganos respiratorios profundos, en gran parte está impedido por una especie de filtración que tiene lugar en la nariz. En los animales, el moco traqueal, como la mucosa de la parte posterior de la nariz normal, suelen ser estériles, si bien el vestíbulo nasal por lo usual se halla fuertemente contaminado. Se ha llegado a la conclusión de que tres cuartos a cuatro quintos de la flora bacteriana del aire inspirado son retenidos a su paso por la nariz.

Küster llegó a concluir que no se puede hablar de una flora nasal característica, que prácticamente todos los organismos con los cuales el hombre puede venir en contacto por el aire asientan allí por un período mayor o menor de tiempo. En la nariz sana, sin embargo, pocos organismos, a no ser los difteroides, logran vivir en permanencia.

Los *senos craneales,* etmoidal, frontal, maxilar y mastoideo suelen ser estériles. Con frecuencia son invadidos por bacterias patógenas, en particular estreptococos, productores de la grave enfermedad que estudiaremos en otra parte. La bacteriología de los senos mastoideos ha sido estudiada en detalle por Skoog (1932).

Tanto en el hombre como en la mujer, los *orificios uretrales* normales alojan cierto número de cocos grampositivos, otros gramnegativos y bacilos no identificados. En ocasiones se encuentran bacilos ácidorresistentes. Tales organismos no tienen significación patógena, pero crean dificultades diagnósticas en casos sospechosos de gonorrea o tuberculosis. El principal organismo de la *vagina* normal parece ser un elemento del grupo *Lactobacillus* conocido como bacilo de Döderlein.

Bacterias en los tejidos. Hay pruebas evidentes de que incluso los mismos tejidos pueden no estar estériles en el hombre normal. Creemos que ello ha creado

errores en las conclusiones de tipo etiológico al hacer cultivos de sangre o de tejido linfático normal o levemente enfermo cuando se han obtenido bacilos diferentes o diversos tipos de cocos. Hay una constante penetración de bacterias desde el intestino a la circulación porta. Estas son en gran parte retenidas en el hígado, pero puede suceder que dicho órgano no siempre elimine todas las bacterias de la circulación porta y que algunas de ellas se alojen en otros tejidos y permanezcan allí en estado latente.

La latencia de bacterias en el organismo sano ya no puede ser puesta en duda. Hace mucho tiempo sabemos que *Treponema pallidum*, las espiroquetas que infectan los ratones y muchos tripanosomas pueden hallarse por largo tiempo en la circulación y en los tejidos de los animales y del hombre sin producir síntomas característicos, incluso sin causar trastorno alguno. Hemos encontrado *Treponema pallidum* en testículos de conejos cuatro meses después de inoculados, sin que haya tenido lugar la menor reacción tisular; en la sífilis humana es bien conocida esta latencia. Las esporas del tétanos pueden permanecer latentes en el bazo y otros órganos del cobayo en determinadas condiciones experimentales. Hemos visto un ejemplo muy convincente de latencia de estreptococos en los tejidos de la mano. Una lesión muy grave por estreptococo hemolítico remitió con tratamiento quirúrgico; cuatro meses después, cuando no había el menor signo de infección, se acometió una segunda operación puramente estética y en el curso de ella se aisló estreptococo hemolítico de los tejidos. Digamos incidentalmente que no hubo signo alguno de infección de la herida, pues curó sin complicaciones.

Las investigaciones de Torrey y otros autores han demostrado que de ganglios linfáticos enfermos de procesos no bacterianos, como sarcoma, enfermedad de Hodgkin, etc., se pueden aislar muchas variedades de bacilos difteroides; Rosenow ha referido que en cierto número de hemocultivos se aislaron difteroides y cocos en pacientes febriles cuya hipertermia evidentemente no era producida por el organismo aislado.

Poco es lo que se puede decir por el momento acerca de este problema de la latencia, porque es poco lo que se sabe, pero debe tenerse en cuenta tal posibilidad y procede adoptar actitud reservada siempre que se aislen gérmenes de los tejidos y se plantee la cuestión etiológica.

Bacteriología del intestino. El estómago recibe grandes cantidades de bacterias con los alimentos ingeridos, pero en condiciones normales pasan al intestino. En estado normal no hay flora autóctona del estómago, si bien las bacterias de la boca tragadas con la saliva deben estar pasando constantemente por la luz del mismo. En caso de retención gástrica por obstrucción pilórica, se desarrollan en el estómago *Sarcinae* y un germen de grandes dimensiones conocido como bacilo de Oppler-Boas. En estado normal las porciones superiores del intestino delgado están relativamente libres de microorganismos. En el *intestino grueso*, sin embargo, hay enorme proliferación de bacterias. Rettger ha comparado el intestino grueso del hombre y animales inferiores a "un verdadero tubo de cultivo en el cual determinados tipos de bacterias parecen estar luchando constantemente para ganar la supremacía".

Las heces, en gran proporción, se componen de bacterias, la mayor parte muertas. El número de las presentes en las heces es enorme. Las determinaciones por el método de Strassburger (separación por centrifugación) indican que el adulto normal excreta diariamente unos 8 g (peso seco) de bacterias; según Rettger corresponderían a 128 billones de organismos. MacNeal y sus colaboradores, Matill y Hawk, han confirmado estos datos. Gran parte del nitrógeno y de la grasa fecal están contenidos en las bacterias excretadas (Sperry).

La flora bacteriana del intestino varía según las edades, con la salud o enfermedad, y depende, en alto grado, de la dieta alimenticia. Además, muchas de las bacterias que causan enfermedades específicas del intestino, como el bacilo tífico, los paratíficos, los del grupo disentérico y otros organismos de poder patógeno dudoso, como los bacilos de Morgan, están muy estrechamente relacionados en morfología y reacciones de cultivo con los saprófitos del intestino.

En ningún otro campo del trabajo bacteriológico, por lo tanto, resulta más necesario conocer las especies bacterianas que suelen encontrarse y carecen de significación patológica.

Además, el intestino es un gran tubo de ensayo desde el cual los productos bacterianos pueden ser absorbidos en cantidades suficientes para producir enfermedad. En él, las diferentes clases de alimentos suministran el material nutritivo que puede ayudar a unas u otras especies, y son posibles diversas condiciones de aerobiosis o anaerobiosis. Por lo tanto, es probable que muchos de los llamados casos de intoxicación intestinal, considerados antiguamente de manera indefinida como envenenamiento por ptomaínas, sean causados por substancias formadas dentro del intestino por acción de bacterias sobre los alimentos, más que por la cantidad relativamente pequeña de productos de fermentación y putrefacción ingeridos con alimentos descompuestos.

El intestino del niño al nacer es estéril. El meconio se ha encontrado libre de bacterias por muchos investigadores. Pero ello no dura mucho. Pocas horas después del nacimiento se inicia la infección, y desde entonces hasta la muerte el intestino alberga constantemente una voluminosa y variada flora bacteriana. Kendall, quien ha escrito mucho al respecto y ha reunido rica información de las investigaciones de Escherich, de Herter y de las propias, ha clasificado las diferentes fases de la flora bacteriana humana como sigue:

1. Intestino al nacer, estéril.
2. Primero al tercer día, período de *infección bacteriana adventicia.*

Después de este tiempo, hay un período de establecimiento de la flora intestinal infantil característica, que cambia gradualmente conforme la dieta se aproxima más y más a la del adulto, para transformarse en la flora característica de éste.

En los primeros días, durante el estadio de *infección adventicia,* cuando el niño recibe sus primeras bacterias del aire y objetos que lleva a la boca, la flora bacteriana es de tipo accidental, sin característica.

Cuando el niño empieza a tomar alimento es de gran importancia para determinar la flora bacteriana saber si toma el pecho o si está sometido a lactancia artificial con leche modificada de vaca.

En los niños alimentados al pecho, la parte superior del intestino delgado contendrá por lo común enterococos, *Streptococcus lactis,* y habrá predominio general de formas cocoides. Más abajo, hacia la válvula íleocecal y más allá, aparecen *A. aerogenes* y colibacilos. En las porciones inferiores del ciego y del recto predominan el anaerobio *L. bifidus* de Tissier y otros anaerobios similares y puede haber muchas bacterias proteolíticas.

Por el contrario, en los niños alimentados artificialmente, el intestino es relativamente más rico en gérmenes del grupo coli y de tipo *A. aerogenes;* se presentarán en número considerable *B. mesentericus* y anaerobios formadores de esporas; en la parte inferior del intestino los tipos de *L. bifidus* están ampliamente reemplazados por bacilos coli, *L. acidophilus* y organismos similares. Muy pronto puede también observarse un curioso organismo, similar al del tétanos, conocido como *B. putrificus* de Bienstock.

Tissier, quien ha trabajado intensamente sobre este problema, describe la flora de un niño de cinco años, en el que estaba teniendo lugar la transición gradual de la dieta láctea a una mixta, como sigue: "Flora fundamental constante: *L. bifidus*, enterococos, colibacilo, *L. acidophilus*. Organismos adventicios variables: *Cl. perfringens*, cocos y cierto número de bacilos gramnegativos, junto con algunas levaduras."

Cuando se alcanza la vida adulta, hay aumento gradual relativo de organismos de tipo coli, que con el tiempo llegan a constituir alrededor del 75 por ciento de las bacterias intestinales.

Todos los que han estudiado esta cuestión han comprobado que la dieta guarda relación clara e importante con la flora intestinal y que se pueden producir alteraciones precisas en el contenido bacteriano del intestino por ajuste deliberado de la dieta. Los estudios de Herter, de Kendall y de Rettger, particularmente, han contribuído a nuestro conocimiento de este punto. Herter atribuía particular importancia al bacilo de Welch y sus subvariedades en la putrefacción intestinal. En ello no estaba enteramente de acuerdo con Rettger y otros, quienes creen que el bacilo de Welch ataca las proteínas, pero en grado moderado y está relacionado principalmente con la fermentación de los carbohidratos. Herter produjo indicanuria en perros alimentándolos con grandes cantidades de carne y comprobó que con tal alimentación el colon y el íleon contenían un número considerable de bacilos anaerobios. Creyó que este bacilo estaría relacionado con procesos de putrefacción crónica que tienen lugar en el intestino grueso, en el curso de los cuales los bacilos anaerobios producen ácido butírico. A consecuencia de ello puede haber una considerable irritación intestinal e intolerancia para los carbohidratos. Otros autores, como Friedman, creen que el estreñimiento favorece la proliferación de estos organismos de putrefacción. Simonds ha hecho un estudio completo de la relación entre los bacilos del tipo *perfringens* y los procesos intestinales y ha revisado extensamente la literatura; resume sus estudios sobre este problema como sigue: "En el caso de diarrea por el bacilo de la gangrena gaseosa, la presencia de un exceso de carbohidratos en el contenido intestinal crea unas condiciones en la parte inferior del íleon y primera del colon particularmente adecuadas para el desarrollo de *Cl. perfringens*. Como ha señalado Kendall, la ausencia de bacterias productoras de ácido láctico hace aún más favorables las condiciones para la multiplicación de estos organismos. Por lo tanto, su número aumenta rápidamente, producen ácido butírico irritante y pasan rápidamente en exceso a la porción inferior del intestino. El número de esporas producidas será aproximadamente proporcional al número de bacilos que alcanzan esta última porción; de aquí el excesivo número de esporas de *Cl. perfringens* en las deyecciones en caso de diarrea por bacilo de la gangrena gaseosa." Los resultados de Simonds comprueban la observación de Kendall y Day, en el sentido de que niños y adultos con diarrea que presentaban gran número de bacilos de Welch *(perfringens)* en las deposiciones empeoraban si se alimentaban con azúcares, y pronto mejoraban cambiando la dieta por otra compuesta en gran parte de proteínas. La adición de ácido láctico por alimentación con suero de leche ayuda aún más a eliminar el bacilo de Welch. Kendall ha demostrado por experimentación prolongada en monos, perros y gatos que la alimentación con leche de vaca, a la cual se ha añadido lactosa suficiente para que se parezca más a la leche de mujer, produce en ellos una flora bacteriana que se aproxima a la normal del lactante. Las evacuaciones tienen reacción ácida y empiezan a predominar organismos como *L. bifidus* y enterococos. Para lograrlo, afirma que es necesario continuar dicha alimentación por largo tiempo. Kendall divide los casos patológicos en los cuales cabe sospechar que las con-

diciones bacterianas anormales del intestino juegan papel causal, en dos grupos: los debidos a la acción de las bacterias sobre las proteínas y aquellos en que se trata principalmente de fermentación de carbohidratos. En el caso de procesos proteolíticos anormales puede haber una liberación de substancias del tipo de la histamina y otras aminas tóxicas; pueden incluso formarse toxinas especificas como las producidas recientemente por Bull y otros a partir del bacilo de Welch *(perfringens)*. La desintegración anormal de los carbohidratos puede resultar en hiperacidez y éxtasis intestinal. La putrefacción secundaria, resultante de este éxtasis, puede producir síntomas de intoxicación.

Las investigaciones de Rettger y Cheplin, efectuadas desde 1921, han demostrado que en la mayor parte de los casos la flora intestinal puede cambiarse radicalmente por la dieta. La administración simultánea de lactosa y cultivo en leche de *Lactobacillus acidophilus* substituye la flora de putrefacción por una flora acidificante y en un 25 por ciento de los casos se han llegado a implantar en el intestino cepas adecuadas de *Lactobacillus acidophilus*. No es posible asegurar la implantación de *Lactobacillus bulgaricus*. Se han obtenido resultados beneficiosos con este tipo de transformación de la flora intestinal. No podemos tratar aquí adecuadamente estas cuestiones; remitimos al lector a las publicaciones de Rettger, la monografía de Kopeloff y la bibliografía comentada publicada por Frost y Hankinson.

Gran número de especies de *bacterias anaerobias* habitan el intestino grueso. Hasta hace poco se ha dirigido la atención principalmente al gran grupo de anaerobios esporulados del género *Clostridium* incluyendo los organismos de putrefacción y fermentación antes mencionados.

En 1933, Eggert y Gagnon trabajaron de nuevo en un campo olvidado de la bacteriología intestinal al estudiar el género *Bacteroides*, que incluye los anaerobios obligados no esporulados y publicaron un estudio sistemático de dieciocho especies gramnegativas de este género. Dos de estas especies habían sido aisladas por Distaso; dieciséis eran nuevas. En 1935 Eggert amplió los conocimientos describiendo once especies de anaerobios no esporulados grampositivos aislados de las heces. Después la investigación de *Bacteroides* gramnegativos fué completada por Weiss y Rettger, quienes llegaron a la conclusión de que estas formas son los organismos predominantes en el intestino de la mayor parte de las personas adultas. Para su clasificación propusieron cuatro grupos basados en primer término en la serología y en segundo en la morfología, y se inclinaron a considerar las variedades grampositivas descritas por Eggert como pertenecientes a otro género.

Estos importantes estudios están prosiguiendo en el laboratorio del profesor Rettger. Los resultados deberán aclarar la clasificación del género *Bacteroides* y demostrar la relación de estos organismos con las bacterias fusiformes. Cabe esperar que permitirán un mejor entendimiento de la bacteriología intestinal. Para el bacteriólogo médico, que encuentra estos organismos en cultivos anaerobios de abscesos apendiculares y de peritonitis, el mejor conocimiento de este grupo será particularmente útil.

BIBLIOGRAFIA

Buchner, P. *Tier und Pflanze in Intracellularer Symbiose*, Berlín, 1921.
Castellani, A. *J.A.M.A.*, 1926, 87:15.
Churchman, J. W., and Kahn, M. C. *J. Exper. M.*, 1921, 33:583.
Cunningham, J. S. *J. Infect. Dis.*, 1929, 45:474.
Dochez, A. R. *Tr. Ass. Am. Physicians*, 1921, 36:188.
Douglas, R. S., Fleming, A., and Colebrook, L. *Lancet*, 1917, 1:605.
Eggert, A. H., and Gagnon, B. H. *J. Bacteriol.*, 1933, 25:389.
——— *J. Bacteriol.*, 1935, 30:277.
Escherich. *Darmbakterien des Sauglings*, Stuttgart, 1886, p. 9.

FRIEDMAN. *Tr. Chicago Pathol. Soc.*, 1901. Citado de Simonds.
FROST, W. D., and HANKINSON, H. *Lactobacillus Acidophilus*, an Annotated Bibliography to 1931, Milton, Wis., 1931.
HALL, I. C. *J. Bacteriol.*, 1927, 13:215.
HERTER. *The Common Bacterial Infections of the Intestinal Tract*, New York, 1907.
HOLMAN, W. L. *Newer Knowledge of Bacteriology and Immunology*, Chicago, 1928, Chap. VIII, pp. 102-119.
——*J. Med. Research*, 1916, 35:151.
HOLMAN, W. L., and MEEKISON, D. M. *J. Infect. Dis.*, 1926, 39:145.
HULL, T. G. *Diseases Transmitted from Animals to Man*, Springfield, Ill., 1930.
KÄMMERER, H. *Klin. Wchnschr.*, 1923, 2:1153; 1924, 3:723.
KENDALL, A. G. *Bacteriology, General, Pathological and Intestinal*, Philadelphia, 1928.
KENDALL, A. G., and DAY, A. A. *Boston M. & S. J.*, 1911, 741; 1912, 753.
KOPELOFF, N. *Lactobacillus Acidophilus*, Baltimore, 1926.
KÜSTER, E. *Handb. d. pathog. Mikroorgan.*, edited by Kolle, R. Kraus and P. Uhlenhuth, Jena, 1929, 3rd ed., Vol. 6, Chap. VII, p. 355.
MACNEAL, W. J., LATZER, L. L., and KERR, J. E. *J. Infect. Dis.*, 1909, 6:123, 571.
MATILL, H. A., and HAWK, P. B. *J. Exper. M.*, 1911, 14:433.
MEYER, K. F. *Newer Knowledge of Bacteriology and Immunology*, Chicago, 1928, Chap. XLV, p. 607.
——*Proc. Inst. Med. Chicago*, 1931, 8:234.
NEUMANN, *Ztschr. f. Hyg.*, 1902, 40:33.
NISSLE, A. *Handb. d. pathog. Mikroorgan.*, W. Kolle, R. Kraus, and P. Uhlenhuth, 3rd ed., Jena. 1929, Volume VI, Chapter VIII, p. 391.
PEARL, R. *Scientific Monthly*, 1921, 13:144.
PORTIER, P. *Les Symbionts*, Paris, 1918.
PROCTOR, B. E. *J. Bacteriol.*, 1935, 30, 363.
RETTGER, L. F. *J. Biol. Chem.*, 1906, 2:71.
——*Newer Knowledge of Bacteriology and Immunology*, Chicago, 1928, Chap. XLVI, p. 639.
RETTGER, L. F., and CHEPLIN, H. A. *Intestinal Flora*, New Haven, 1921.
——*Arch. Int. Med.*, 1922, 29:357.
SEITZ, A. *Handb. d. pathog. Mikroorgan.*, ed. by W. Kolle, R. Kraus, and. P. Uhlenhuth, Jena, 1929, 3rd ed., Chap. V, p. 505.
SIMONDS, J. P. Monogr. Rockefeller Inst., 1915, No. 5.
SKOOG, T. *Acta Otolaryngol. Scand.*, 1932, 18:41.
SMITH, T. *Tr. Ass. Am. Physicians*, 1921, 36:172.
——*Science*, 1921, 54:99.
SPERRY, W. M. *J. Biol. Chem.*, 1929, 81:299.
STRASSBURGER, J. *Ztschr. f. Klin. Med.*, 1902, 46:413.
WAKSMAN, S. A. *Principles of Soil Microbiology*, Baltimore, 1932, 2nd ed.
WALLIN, J. E. *Symbiontism and the Origin of Species*, Baltimore, 1927.
WEBSTER, L. T., and CLOW, A. D. *J. Exper. M.*, 1932, 55:445.
WEISS, J. E., and RETTGER, L. F. *J. Bacteriol.*, 1937, 33:423.
WOLMAN, A., and GORMAN, A. E. *Water-borne Typhoid Fever Outbreaks*, Baltimore, 1932.
——*Am. J. Pub. Health*, 1931, 21:115.

CAPITULO IX

VARIABILIDAD DE LAS BACTERIAS

Antes de 1876 la mayor parte de los bacteriólogos aceptaban la doctrina de que las bacterias eran en extremo variables y podían cambiar rápidamente de bacilos a cocos, y viceversa. En 1877, Nägeli introdujo su teoría del *pleomorfismo* que expresaba un punto de vista extremo por implicar que todas las bacterias pertenecían a una especie. La razón para tal confusión estribaba en que la mayor parte de los bacteriólogos de los primeros tiempos, con excepción de Pasteur, trabajaban con cultivos mezclados por técnicas defectuosas.

Cohn originalmente creyó en el pleomorfismo, pero en 1876 llegó a la conclusión de que las bacterias podían ser divididas en géneros y especies determinados, tan estables como los géneros y especies de otras plantas y animales. Koch y sus discípulos fueron firmes adeptos del *monomorfismo*. Observaron variaciones, pero las consideraron especies nuevas, *formas de involución,* o contaminaciones. En 1890 Koch admitió alguna variabilidad en las bacterias, pero, como indicaba Theobald Smith (1932), poco hubo en las publicaciones de Koch y sus colaboradores que permitiese suponer que creían en la *plasticidad de los microorganismos.* Cohn y Koch y sus continuadores tenían razón al insistir en la necesidad de emplear técnicas estrictas y eliminar contaminaciones, pero su insistencia en pro de un monomorfismo riguroso, sostenida por su enorme prestigio, hizo mucho para fomentar el *período de caracterización* de los gérmenes, entre 1900 y 1920.

Pasteur y sus colaboradores franceses nunca estuvieron por completo de acuerdo con la teoría de Koch del monomorfismo; ya en 1893 Almquist en Suecia empezó a publicar referencias de variabilidad bacteriana. Lehmann y Neumann en Alemania, y Theobald Smith en EE. UU., se opusieron siempre a la *creación de especies.* En 1912 Baerthlein y Eisenberg en Alemania publicaron monografías refiriendo variaciones en las formas de las colonias de *E. coli* que reconocemos ahora como colonias llamadas lisas, rugosas, intermedias y secundarias. Tales cambios en la forma de la colonia iban asociados con alteraciones de otros caracteres, como reacciones bioquímicas y motilidad. La idea de tan radicales cambios en una especie determinada irritó a los monomorfistas, que inmediatamente levantaron el grito de *contaminación.*

Tales reacciones ante las variaciones relativamente simples descritas por Baerthlein y Eisenberg fueron ligeras, si se comparan con la tormenta de protestas elevadas por las publicaciones de Hort (1917) y Mellon (1919), quienes describieron complejas *formas reproductivas* de las bacterias, tales como gránulos diminutos, formas bacilares, formas difteroides y formas cocoides gigantes, todas ellas presentes en el mismo cultivo o que aparecían en sucesión en el *ciclo vital* del organismo. Sus observaciones han sido confirmadas, pero ahora se ofrecen explicaciones diferentes para la significación de las diversas estructuras.

Los bacteriólogos conservadores quedaron fuertemente impresionados por la demostración de la variabilidad ofrecida por Hort y Mellon y estuvieron tentados de volver a la doctrina rígida de Koch del monomorfismo hasta que Arkwright (1921) en Inglaterra y de Kruif (1921) en EE. UU. volvieron a descubrir el fenómeno de la

variación de las colonias y la expusieron de manera sencilla y convincente. Arkwright relacionó las variaciones en el tipo de colonia con alteraciones en la aglutinabilidad y en la composición antigénica; de Kruif demostró que se podría predecir la virulencia del cultivo por el aspecto de la colonia. De Kruif llamó a esta modificación de la especie *microbic dissociation*. La variación ocurre también en géneros tan diversos como *Penicillium notatum* (Stahmann y Stauffer, 1947), *Actinomyces bovis* (Rosebury y col., 1944) y *Candida albicans* (Mickle, 1940).

Con la aceptación de la teoría de la variación microbiana, la Bacteriología entró en el *período del análisis antigénico*. De este modo se ha restaurado una especie de monomorfismo modificado —las bacterias no cambian de cocos a bacilos, ni varían de unos géneros a otros, pero dentro de la estructura de las especies mismas ocurren alteraciones profundas de actividad biológica, composición antigénica y virulencia—. El bacteriólogo moderno, con ayuda del químico inmunólogo, en muchos casos puede identificar la estructura química particular de un organismo, la cual rige su virulencia y su capacidad antigénica, específica o no.

Tipos de variación. La *variación* no debe ser confundida con la *adaptación*. Las bacterias, como otros seres vivos, intentan adaptarse a su medio. Es evidente que organismos que han estado desarrollándose en los tejidos de pacientes vivos deben poseer un considerable poder de adaptación para lograr vivir y desarrollarse cuando son trasplantados, en el laboratorio, a medios inanimados. Los cultivos pueden ser adaptados para desarrollarse en presencia de una cantidad excesiva de sal, pero rápidamente vuelven en una generación a su primitiva intolerancia por la sal cuando se les transfiere a medios normales. Se pueden producir enzimas adaptativas (Dubos, 1945) por el desarrollo de los organismos en un substrato particular, pero se pierden pronto cuando se transfieren a otros tipos de medios. En general, cualquier característica adquirida que se pierde inmediatamente por la totalidad de la población bacteriana es, con toda probabilidad, un ejemplo de adaptación y no de variación.

La *variación* es un proceso repentino *discontinuo*. Las nuevas formas, en general, son tan estables como aquellas de las que derivaron (Dubos, 1945).

En los estudios originales de Arkwright (1921) y de Kruif (1921) y en mucho del trabajo posterior se ha enfocado la atención sobre la correlación entre los cambios en la forma de la colonia y las alteraciones en la estructura antigénica y la virulencia (Revisión de Hadley, 1927 y 1937).

Variación S—R. * Los organismos pertenecientes al grupo coli-tifo-paratifo-disentérico suelen hallarse en fase lisa (S) cuando son aislados de los pacientes. Las colonias son lisas, blandas y compuestas de bastones gruesos, cortos, que presentan poca variación de tamaño. Los organismos hacen suspensiones homogéneas en suero fisiológico y aglutinan rápidamente con el suero específico o con el de convalecientes. El carácter liso de la colonia y su especificidad antigénica dependen de la presencia de antígenos de superficie, identificados como complejos de glúcido-lípido-proteínas. Después de vivir por algún tiempo en medios artificiales aparecen colonias del tipo rugoso (R), mayores, pero más aplanadas, de superficie rugosa (figura 93, Capítulo XXXIII). Estas colonias no son blandas y no hacen suspensiones homogéneas en solución salina fisiológica. Los organismos que las componen aglutinan espontáneamente cuando aumenta el contenido en sal, y no aglutinan, o lo hacen pobremente, con un suero específico preparado por inmunización con organismos de colonias S. Las formas R han perdido su virulencia y son fagocitadas con facilidad por las células de los animales normales. Vistas al microscopio, las células de las

* S y R iniciales inglesas de *smooth* (liso) y de *rough* (rugoso). (N. del T.)

colonias R son pleomórficas; varían desde bastones muy cortos hasta largos filamentos que pueden presentar ramificaciones. Tales cambios en la forma de la colonia y en el aspecto microscópico van acompañados de pérdida de los complejos glúcido-lípido-proteínas de superficie. Con esta pérdida queda al descubierto otro antígeno polisacárido complejo, el cual es específico de grupo para los organismos entéricos (White, 1940). Además, aun se puede perder la última capa superficial por una variación adicional.

El cambio de S a R puede producirse repentinamente en un paso, o por una serie de ellos, lo cual da lugar a la aparición de *colonias intermedias* entre las S y las R típicas. Los tipos S y R son relativamente estables en condiciones normales de cultivo, pero las formas intermedias son inestables y vuelven a transformarse, una vez replantadas, en las formas típicas S o R. Estas formas intermedias han sido designadas como Sr, SR o sR, según su semejanza con las formas S o R.

Los cambios algo espectaculares vistos en el aspecto de las colonias S y R dependen del comportamiento de los bacilos inmediatamente después de la división celular (Bisset, 1938; Kahn, 1939). En las formas lisas, las células hijas cortas *se deslizan* una contra otra para disponerse uniformemente en la colonia, mientras que en los cultivos de tipo rugoso, la división celular se retrasa, se producen formas largas, y cuando ocurre la división el proceso de *deslizamiento* es incompleto.

La posibilidad de que existan individuos mutantes en una mezcla de gérmenes, y aun en cultivos aparentemente puros, ha sido eliminada por la recuperación de variantes, llamadas *clonos*, en cepas descendientes de un solo organismo seleccionado directamente de una preparación microscópica (Braum, 1947). Trabajando con una raza tipo S inestable de *S. typhimurium*, Zelle (1941) separaba cada célula hija cuando la división ocurría y estableció la presencia de una forma R por cada 148 divisiones celulares.

En condiciones de cultivo artificial la dirección de la variación es de S a R, probablemente porque las formas R se adaptan mejor para el desarrollo con las dietas relativamente pobres proporcionadas por los medios inanimados; las características que daban originalmente la virulencia del organismo para los animales no tienen aquí ningún valor por lo que se refiere a supervivencia. Cuando se inyecta a un animal un cultivo conteniendo una mezcla de formas S y R, las condiciones son inversas; las formas R, carentes de armas defensivas y ofensivas, son eliminadas pronto por los fagocitos, mientras que las formas S sobreviven y se multiplican.

La virulencia casi siempre está asociada con el tipo S de colonia. En algunos organismos, como los bacilos del carbunco y los tipos humano y bovino de bacilos tuberculosos, las formas R son las más virulentas.

En los grupos de cocos grampositivos y gramnegativos, el carácter liso o rugoso de las colonias depende de la presencia o ausencia de ciertos antígenos de superficie y no de las variaciones en el mecanismo de la división celular, como se ha observado en el grupo de los bacilos entéricos.

Colonia mucoide. Los organismos con cápsulas bien desarrolladas, tales como *D. pneumoniae, H. influenzae, K pneumoniae* y *Cryptococcus neoformans*, producen colonias mucoides (Dawson y col., 1938). También originan colonias mucoides (M) *Past. pestis* y algunos tipos disociados de *Brucella, Salmonella, Shigella* y *Vibrio comma.* En el último grupo el material polisacárido se indica como *capa mucilaginosa* más que verdadera cápsula (Dubos, 1945). El material capsular suele ser específico y antigénico para ratones y hombres, pero no para conejos. Las funciones de la cápsula son de defensa contra la fagocitosis; los organismos capsulados, por lo común, son más virulentos que las formas no capsuladas.

En algunos organismos no patógenos, tales como *Serratia marcescens* se puede observar un ciclo completo de cambios de M — S — R — M con variación independiente en el color de las colonias (Reed, 1937).

Colonias enanas. Con menor frecuencia (tal vez nuestros métodos de averiguación son menos eficientes) ocurren otros tipos de variación, tales como la aparición de las colonias *enanas* (D) *, *gonidiales* (G) (Hadley, 1927-1937), y *colonias de tipo pleuroneumónico* (L) * (Klieneberger, 1935).

Los organismos de las colonias enanas pueden ser difteroides en la forma y grampositivos, con independencia de la reacción que diera la raza original por el método de Gram. Tienen sistemas de enzimas pobremente desarrollados, crecen lentamente, tienen poca o ninguna virulencia y vuelven con lentitud, en condiciones favorables al tipo original del cual derivan. Se han aislado colonias D en pacientes con gonorrea crónica (Morton y Shoemaker, 1945); con frecuencia se aislan de poblaciones bacterianas que han sido expuestas a la penicilina o estreptomicina.

Colonias G. Las colonias G miden por término medio unos 0,5 mm de diámetro y se componen de diminutas formas cocoides y bacilares. Se parecen a las del tipo D en que son siempre grampositivas, bioquímicamente inertes y saprófitas. Hadley pensó al principio que estas formas representaban el estado gonidial en el ciclo de vida de las bacterias. Han sido estudiadas con algún detalle en cultivos de estafilococos (fig. 39, Cap. XVIII) (Hoffstadt y Youmans, 1932; Hale, 1947). Las formas G pasan a través de los filtros que retienen las bacterias ordinarias. Aunque su transformación regresiva a la célula de tipo normal sea lenta y difícil, estamos de acuerdo con Morton (1940) en que esto debe lograrse antes de aceptar como específica una forma G particular.

Colonias L. Las colonias del tipo pleuroneumónico (L) están asociadas casi constantemente con *Streptobacillus moniliformis (Actinomyces muris ratti)* (Klieneberger, 1942; Sabin, 1941; Dienes y Smith, 1944; Dienes, 1945-1947). También han sido aisladas a partir de cepas de *H. influenzae* (Dienes, 1947). En las preparaciones microscópicas se ven formas cocoides y filamentosas diminutas, así como cuerpos globoides relativamente grandes que contienen las formas diminutas. Los subcultivos han sido mantenidos por muchas generaciones en medios sólidos, pero en medios líquidos puede ocurrir la reversión al tipo progenitor original. Los verdaderos organismos de la pleuroneumonía son patógenos para ciertos animales y nunca vuelven a la forma grande. Todavía se discute si guardan mayor relación con las bacterias o con los virus (Dienes, 1945).

Método para forzar la variación. La variación ocurre como proceso natural, pero el fenómeno se puede inducir por diversos métodos. La variación es más frecuente en medios líquidos y en cultivos viejos después de incubación prolongada. La adición de pequeñas cantidades de cloruro de litio o de fenol da lugar a la aparición de mayor número de variantes. Los mutantes aparecen con mayor frecuencia después de exponer gran número de bacterias a la acción de sulfonamidas, penicilina, estreptomicina, luz ultravioleta, rayos X, emanación de radio, gas mostaza nitrogenada o bacteriófago (Luria, 1947). En estas condiciones, el 99 por ciento de los organismos mueren y algunos de los supervivientes muestran características que los diferencian en una u otra forma de la cepa original. Se sabe que las exposiciones a la radiación y al gas mostaza nitrogenada inducen mutaciones en formas más elevadas de vida, con mecanismos sexuales de reproducción bien desarrollados (Auerbach, 1945; Delbrück, 1945). La irradiación de los medios antes de sem-

* D, inicial de la palabra inglesa *dwarf* (enano). L, inicial de *little* (pequeño). Los organismos de la pleuroneumonía dan colonias microscópicas. (N. del T.)

brarlos, induce también a la mutación, probablemente por alteración de moléculas que después son metabolizadas por los organismos (Stone y col., 1947). El tratamiento de los medios con peróxido de hidrógeno aumenta la proporción de mutaciones (Wyss y col., 1947). Las sulfonamidas, antibióticos y bacteriófago (Luria, 1947; Braun, 1947) probablemente no aumentan la mutación, pero eliminan las formas normales, dando a las *variantes ocurridas naturalmente* oportunidad para desarrollarse.

En el organismo animal las formas virulentas M y S tienen ventaja sobre la forma R y otras en las primeras fases de la infección por sus armas ofensivas y defensivas. Sin embargo, cuando el paciente se recupera, las bacterias están sujetas a la acción de los anticuerpos elaborados específicamente contra sus antígenos de superficie. Esto favorece el desarrollo de la forma R que no se afecta por los anticuerpos específicos anti-S. Las formas R se aislan con frecuencia de pacientes en fase de convalecencia y de los estudiados cuando termina una epidemia. El mismo fenómeno puede observarse en el tubo de ensayo. Los cultivos desarrollados en medios que contienen antisueros, preparados por inmunización con organismos en fase M o S, muestran pronto un predominio de formas R. Asimismo, las formas R pueden sufrir reversión a formas S por el desarrollo de organismos de tipo R en medios que contienen suero anti-R. Como se ha señalado antes, la forma R tiene ventajas sobre la forma S cuando los organismos se desarrollan en medio artificial, pero esta ventaja desaparece cuando se añaden al medio anticuerpos específicos dirigidos contra sus antígenos de superficie y el equilibrio de fuerzas favorece el desarrollo de las formas S.

Naturaleza de la variación. Tres teorías han sido propuestas para explicar la variabilidad de las bacterias y, más específicamente, el tipo de variabilidad llamado variación bacteriana: 1) *adaptación* o *modificación perdurable*, "Dauermodifikationen" (Koblmüller, 1937); 2) *ciclos de vida*, "Cyclogeny"; 3) *mutación y selección*.

La idea de la adaptación ha sido abandonada por todos los investigadores modernos (Luria, 1947) y la mayor parte de las observaciones excluyen la existencia de ciclos de vida en las bacterias (Braun, 1947; Luria, 1947), lo cual deja a la mutación o selección como la teoría que explica más satisfactoriamente los hechos conocidos acerca de la variación. Sin embargo, debemos gratitud a Enderlein (1925), Hort (1917), Mellon (1917), Hadley (1927, 1937) y sus colaboradores quienes propusieron la teoría del ciclo de vida, no sólo por su valor al desafiar a las autoridades conservadoras, sino también por sus numerosas contribuciones fundamentales a nuestro conocimiento de la biología de la célula bacteriana.

El material nuclear ha sido demostrado en las células tanto por métodos de tinción (Robinow, 1945) como por microfotografías electrónicas (Knaysi, 1947). Sin embargo, muchas de las pruebas en favor de la mutación genética son indirectas y no se han demostrado conjuntos definidos de genes o cromosomas.

La teoría de la mutación fué puesta en duda al principio por el gran número de *mutantes* que aparecían en los cultivos bacterianos. Cálculos cuidadosos han demostrado, sin embargo, que las mutaciones espontáneas no son más rápidas en las bacterias que en la mosca de la fruta *Drosophila* cuando se hacen las debidas correcciones por frecuencia de generaciones y por las enormes poblaciones bacterianas (Delbrück, 1945). Además, el bombardeo por rayos X aumenta el promedio de mutaciones en las bacterias y en *Drosophila* en proporción aproximadamente igual (Gowen, 1941).

Las variantes no llaman nuestra atención en condiciones ordinarias porque tienen poco o ningún valor de supervivencia tanto en los tejidos animales como en los

medios seleccionados empíricamente para mantener una población normal (Lincoln, 1947). En realidad, la estabilidad aparente de nuestras razas normales se refuerza por las características específicas de cultivo y de ambiente, producidas artificialmente.

Un ejemplo sencillo de la influencia del medio en la selección de la variante que ha de sobrevivir lo proporcionan las antiguas observaciones sobre cepas de *E. coli mutabile* de bacilos paracólicos (Massini, 1907; Neisser, 1906). Este organismo produce fermentación de la lactosa después de siete a diez días de sembrado en caldo lactosado. Al principio se supuso que cada célula individual adquiría gradualmente la capacidad de fermentar la lactosa, pero esto era una presunción equivocada, como se demostró por las observaciones sobre el comportamiento de las colonias en placas de agar lactosado. Cuando se les llevó sobre agar que contenía 1 por ciento de lactosa y un indicador, las colonias aisladas eran incoloras después de 24 y 48 horas de incubación. Más tarde, los organismos fermentadores de la lactosa aparecían en zonas localizadas de algunas de las colonias y podían reconocerse fácilmente por su color rojo. Estas variantes podían aparecer en un segmento de una colonia, en una papila o colonia hija, o en la periferia de una colonia incolora. Por su capacidad de utilizar la lactosa, la variante tenía una ventaja sobre el organismo original y crecía con mayor rapidez. Los subcultivos de las colonias rosadas daban cepas que habían adquirido en forma definitiva la capacidad de fermentar la lactosa precozmente; los subcultivos de las colonias incoloras, sin embargo, continuaron dando variantes fermentadoras de la lactosa en proporción constante, bajo condiciones experimentales, de 1 mutante por 100 000 células bacterianas (Lewis, 1934; Hershey y Bronfenbrenner, 1936; Parr y Simpson, 1940). Otro ejemplo del mismo tipo de actividad bioquímica adquirida lo proporciona el estudio de cepas de *E. coli* que no pueden metabolizar el ácido cítrico, pero producen variantes capaces de transformarlo (Parr y Simpson, 1940; Zamenhof, 1946).

Nadie sabe, ni puede siquiera aventurarse una suposición, cuál sea el número de variantes en cada cultivo bacteriano que no logran reproducirse por ser inadecuado el medio. Las observaciones de Miller y Bohnhoff (1946-1947) sobre el desarrollo de la resistencia a la estreptomicina han demostrado que las variantes ocurren con requerimientos nutritivos raros. Se sembraron meningococos sobre agar que contenía estreptomicina suficiente para inhibir la mayor parte de los organismos originales. Se desarrollaron dos tipos de colonias de las variantes que sobrevivieron a los efectos de la estreptomicina. Un tipo de colonia crecía rápidamente cuando se hacían subcultivos en medios ordinarios, pero conservaba su resistencia a la estreptomicina. Los organismos del segundo tipo de colonia no se podían desarrollar cuando se trasplantaban a medios normales, pero se desarrollaban en medios con estreptomicina. Esta variante *requería estreptomicina para su desarrollo* y esta necesidad no se perdía cuando los organismos eran introducidos en el cuerpo de un animal. Las cepas originales eran patógenas para el cobayo, pero los organismos que requerían estreptomicina no se desarrollaban en los tejidos del cobayo, probablemente por la ausencia de estreptomicina. Cuando los cobayos recibían grandes dosis periódicas de estreptomicina durante todo el día para asegurar un nivel constante en sus tejidos, los organismos exigentes de estreptomicina se desarrollaban y producían una infección mortal.

Los tipos de variación descritos para *E. coli* y *E. coli mutabile* son relativamente simples y representan una adquisición o *variante provechosa*. Razas de organismos que originalmente no podían fermentar la lactosa o utilizar el ácido cítrico produjeron variantes con esta capacidad. Para el bioquímico esto no es tan sencillo como

le parece al bacteriólogo, ya que la variante debe haber adquirido, o por lo menos modificado, una o más enzimas antes de poder metabolizar o utilizar la lactosa o el ácido cítrico (Lwoff, 1943-46). Además, la facultad para modificar un sistema de enzimas debería estar presente en forma latente en los genes de la raza original o no habrían aparecido en la variante. Así, pues, los límites de variabilidad en cada especie están determinados por la complejidad y estabilidad de los genes.

Hay una teoría ampliamente admitida, según la cual cada enzima de la célula bacteriana está determinada por un único gen o que el gen sirve de pauta para la manufactura de la enzima en la célula funcionante y como mecanismo de transmi-

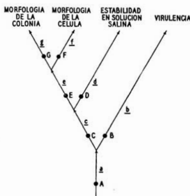


Fig. 24. Esquema que ilustra un mecanismo para producir variaciones dependientes e independientes. (Según Braun, *Bact. Rev.*, 1947, 11:75.)

sión de la herencia en la célula en división (McIlwain, 1946). La teoría monogénica de la enzima encuentra apoyo en los experimentos de Lederberg y Tatum (1946-47) y Roepke y Mercer (1947), quienes bombardearon cepas de *E. coli* con rayos X y aislaron variantes que habían perdido la capacidad de sintetizar una, dos o tres vitaminas del complejo B. Cultivando en simbiosis estas razas deficientes, se aislaron nuevos organismos que tenían las propiedades sintetizantes de ambas razas originales; ello hace suponer que había tenido lugar una fusión de los dos bacilos con un cambio de genes análogo a la fusión sexual de las formas superiores (Lederberg y Tatum, 1946-47). No se sabe si ello constituye un fenómeno aislado o si ocurre regularmente entre las bacterias (Luria, 1947).

Es de observación común que una variante puede perder o ganar una sola característica, como la facultad de fermentar un carbohidrato específico. Pero en muchos casos puede perder a la vez una determinada combinación de caracteres. Esto no es incompatible con la teoría monogénica de la enzima, porque si la enzima faltante producía una substancia intermediaria necesaria para varios procesos, todos éstos deben perderse (fig. 24). Además, la pérdida de una sola propiedad, como la capacidad para sintetizar una cápsula específica, resulta en tan variadas alteraciones

como: 1) la pérdida de la cápsula; 2) pérdida de la aglutinabilidad específica; 3) pérdida de virulencia; 4) cambio de la forma de la colonia de M a S, ya que todas estas propiedades dependen de la presencia de la cápsula (Dubos, 1945).

La variación es aún más compleja en el caso de cepas de meningococos resistentes a la estreptomicina. No sabemos si la cepa estreptomicino-resistente: 1) adquirió un mecanismo para neutralizar el efecto de la estreptomicina; 2) desarrolló un método alterno de metabolismo que no podía ser afectado por el antibiótico, o 3) aprendió a metabolizar y utilizar esta substancia.

El segundo tipo de variante, o sea, las cepas que necesitaban estreptomicina, no sólo adquirían la facultad de utilizar la estreptomicina, lo cual era una variante con ganancia, sino que resultaban dependientes de esta substancia para vivir, indicando que ocurría una segunda alteración en la que se perdía algún elemento del mecanismo metabólico normal. Así, pues, la resultante de esta mutación sirve de ejemplo de *variante con ganancia* y *variante con pérdida.*

Desgraciadamente, no todos los hechos relacionados con las alteraciones de virulencia pueden explicarse por un simple cambio en la forma de la colonia o una alteración en los antígenos conocidos. Hadley y Wetzel (1943) han descrito variaciones *intra-fase* de la virulencia que eran de mucha mayor magnitud que las producidas por el cambio de la forma R a la S (Capítulo XIX). Además, el trabajo sobre transformación de los tipos de neumococos ha demostrado que hay algún factor desconocido en el cuerpo del neumococo que rige su grado final de virulencia, aunque ésta no pueda expresarse hasta que se le da al organismo la protección de una cápsula (Dubos, 1945).

Transmutación de las bacterias. Se ha sugerido que el proceso de evolución en las bacterias va desde los *organismos autotróficos,* que pueden sintetizar todos sus constituyentes orgánicos, incluyendo los sistemas de enzimas, a partir de substancias minerales, agua y aire, a los *parásitos obligados* y, finalmente, a los *virus* que han de depender de los sistemas de enzimas de las células huéspedes (Knight, 1936; Lwoff, 1943-46).

Ciertos tipos de neumococos (Capítulo XXI) han sido cambiados tratando formas S no capsuladas con extractos específicos de ácido desoxiribonucleico obtenidos del material capsular de otros tipos (McCarty, 1946; McCarty y Avery, 1946). El descubrimiento de mayor significación en este campo fué el de que el agente transformante se perpetuase indefinidamente por sí mismo en la célula transformada. Se ha logrado una transformación similar en la cápsula de las razas capsuladas de *E. coli* (Boivin y col., 1945; Vendrely y Lehoult, 1946). Queda por ver, en todo caso, si las transformaciones de este tipo pueden llegar a traspasar los límites que separan las especies.

BIBLIOGRAFIA

Arkwright, J. A. *Path. Bacteriol.*, 1921, 24:36.
Auerbach, C. *Proc. Roy. Soc. Edinburgh*, 1945, 62:211.
Baerthlein, K. *Centralbl. f. Bakteriol.* I Abt., 1912, 66:21.
Bisset, K. A. *J. Path. and Bacteriol.*, 1938, 47:223.
Boivin, A., Delaunay, A., Vendrely, R., and Lehoult, Y. *Compt. Rend.*, 1945, 221:718.
Braun, W. *Bacteriol. Rev.*, 1947, 11:75.
Cohn, F. *Beitr. z. Biol. d. Pflanzen*, 1872, 1:Hft. 2, 127-224, esp. pp. 130, 151; 1875, 1:Hft. 3, 141-207, esp. p. 142; 1876, 2:Hft. 2, 249-276, esp. p. 274.
de Kruif, P. *J. Exper. M.*, 1921; 33:733; 1922, 35:561, 621.
——— *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1922, 19:34, 37, 38, 40.
Delbrück, M. *Ann. Missouri Botan. Garden*, 1945, 32:223.
Dawson, M. H., Hobby, G. L., and Olmstead, M. *J. Infect. Dis.*, 1938, 62:138.
Dienes, L., and Smith, W. E. *J. Bacteriol.*, 1944, 48:125.
Dienes, L. *Bacteriol.*, 1945, 50:441.

———Complex Reproductive Processes in Bacteria, *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, 1946, 11:51.
———*Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1947, 64:165, 166.
Dubos, R. J. *The Bacterial Cell*, Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass., 1945.
Eisenberg, P. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt., 1912, 66:1
Enderlein, G. *Bakterien-Cyclogenie*, Berlin, 1925.
Gowen, J. W. *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, 1941, 9:187.
Hadley, P. *J. Infect. Dis.*, 1927, 40:1-312; 1937, 60:129.
Hadley, P., and Wetzel, V. *J. Bacteriol.*, 1943, 45:529.
Hale, J. H. *Brit. J. Exper. Path.*, 1947, 28:202.
Hershey, A. D., and Bronfenbrenner, J. *J. Bacteriol.*, 1936, 31:453.
Hoffstadt, R. E., and Youmans, G. P. *J. Infect. Dis.*, 1932, 51:216.
Hort, E. C. *Proc. Roy. Soc. London*, Ser. B., 1917, 89:468.
Kahn, M. C. Third Internat. Congr. Microbiology, N. Y., Rept. Proc., 1939, p. 160.
Klieneberger, E. *J. Path. & Bacteriol.*, 1935, 40:93.
———*J. Hyg.*, 1942, 42:485.
Knaysi, G. *J. Bacteriol.*, 1947, 53:539.
Knight, B. C. J. G. *Bacterial Nutrition*, Med. Res. Council (Brit.) Special Rept. Series 210, 1936.
Koblmüller, L. O. *Zentr. f. Bakt. Parasit. u. Infektionskrankh.*, I. Orig., 1937, 139:270.
Koch, R. *Untersuchungen über die Wundinfektionskrankheiten*, Leipzig, 1878. Traducido por W. W. Cheyne in publication of New Sydenham Soc., London, 1880, p. 71.
Lederberg, J., and Tatum, E. L. *Nature*, 1946, 158:558.
Lehmann, K., and Neumann, R. O. *Atlas und Grundriss der Bakteriologie*, München, 1912. Para la traducción inglesa, véase la 7ª edición, *Bacteriology. Especially Determinative Bacteriology*, by R. S. Breed, H. H. Boysen, P. A. Hansen, and W. Reiner-Deutsch, New York, 1931.
Lewis, I. M. *J. Bacteriol.*, 1934, 28:619.
Lincoln, R. E. *J. Bacteriol.*, 1947, 54:745.
Luria, S. E. *Bacteriol. Rev.*, 1947, 11:1.
Lwoff, A. *L'évolution physiologique. Etude des pertes de fonctions chez les microorganismes.* Masson, Paris, 1943.
———*Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, 1946, 11:139.
McCarty, M. *Bacteriol. Rev.*, 1946, 10:63.
McCarty, M., and Avery, O. T. *J. Exper. M.*, 1946, 83:89, 97.
McIlwain, H. *Nature*, 1946, 158:898.
Massini, R. *Arch. f. Hyg.*, 1907, 61:250.
Mellon, R. R. *J. Bacteriol.*, 1917, 2:89, 269; 1919, 4:505.
———*Am. J. M. Sc.*, 1920, 159:874.
———*J. Med. Research*, 1920, 42:61.
Mellon, R. R., and Anderson, L. *J. Immunol.*, 1919, 4:203.
Mellon, R. R., and Jost, E. L. *Am. Rev. Tuberc.*, 1929, 19:483.
Mellon, R. R., and Fischer, L. W. *J. Infect. Dis.*, 1932, 51:177.
Mickle, W. A. *J. Infect. Dis.*, 1940, 66:271.
Miller, C. P., and Bohnhoff, M. *J. Bacteriol.*, 1947, 54:467.
Morton, H. E. *Bact. Rev.*, 1940, 4:177.
Morton, H. E., and Shoemaker, J. *J. Bacteriol.*, 1945, 50:585.
Nägeli, C. von. *Die niederen Pilze in ihren Beziehungen zu den Infectionskrankheiten und der Gesundheitspflege*, München, 1877, pp. 20, 22.
Neisser, M. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt. Ref., Beiheft, 1906, 38:98.
Parr, L. W., and Simpson, W. F. *J. Bacteriol.*, 1940, 40:467.
Reed, G. B. *J. Bacteriol.*, 1937, 34:255.
Robinow, C. F. Chapter in Dubos' *The Bacterial Cell*, Harvard Univ. Press. Cambridge, Mass., 1945.
Roepke, R. R., and Mercer, F. E. *J. Bacteriol.*, 1947, 54:731.
Rosebury, T., Epps, L. J., and Clark, A. R. *J. Infect. Dis.*, 1944, 74:131.
Sabin, A. B. *Bact. Rev.*, 1941, 5:1.
Smith, T. *Ann. M. Hist.* 1932, 4:524.
Stahmann, M. A., and Stauffer, J. F. *Science*, 1947, 106:35.
Stone, W. S., Wyss, O., and Haas, F. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 1947, 33:59.
Tatum, E. L., and Lederberg, J. *J. Bacteriol.*, 1947, 53:673.
Vendrely, R., and. Lehoult, Y. *Compt. Rend.*, 1946, 222:1357.
White, P. B. *J. Path. & Bacteriol.*, 1940, 56:160.
Wyss, O., Stone, W. S., and Clark, J. B. *J. Bacteriol*, 54:767.
Zamenhof, S. *J. Bacteriol.*, 1946, 51:351.
Zelle, M. R. *Genetics*, 1941, 26:174.

CAPITULO X

CLASIFICACION DE LAS BACTERIAS

Durante años ha habido gran confusión al clasificar las bacterias, como lo prueba el número de publicaciones al respecto. Buchanan (1925) las ha reproducido en su mayor parte en una extensa monografía sobre la historia de la clasificación, nomenclatura utilizada y nombres que se han aplicado a los grupos de bacterias. Buchanan, Breed y Rettger (1928) también han publicado un conjunto de resúmenes esquemáticos de las más importantes clasificaciones.

Ninguna de ellas es satisfactoria; no hay clasificación o regla de nomenclatura que tenga valor internacional. En EE. UU. diversos comités de la Sociedad de Bacteriólogos Americanos han estudiado cuidadosamente las nomenclaturas y clasificaciones propuestas por muchos taxonomistas. Tales comités están actuando con el Congreso Internacional de Botánica y la Sociedad Internacional de Microbiólogos para adoptar reglas en la denominación de microorganismos y llegar a un acuerdo general sobre disposición de los grupos y reconocimiento de especies tipo. La publicación preliminar del Comité Americano fué seguida en 1920 por otra (Winslow y col.) que contenía una propuesta de clasificación. Esta propuesta ha servido de base al libro *Manual of Determinative Bacteriology* de Bergey. Ninguna de éstas es oficial en el sentido de haber sido adoptada formalmente por la organización nacional de bacteriólogos de EE. UU.

El Comité Americano adoptó las Reglas Internacionales de Nomenclatura Botánica (Viena, 1905 y Bruselas, 1910) en cuanto pudieran ser aplicables a la Bacteriología. Estas reglas fueron modificadas por los congresos de Cambridge (1930) y de Amsterdam (1935). Las reglas más importantes y de mayor interés para los bacteriólogos, tomadas de la última edición del Código de Botánica (1935), han sido reimpresas en el *Manual* de Bergey. Aunque ningún sistema es adecuado ni oficial, pensamos que ha de ser ventajoso para el bacteriólogo clínico familiarizarse con las normas de la nomenclatura y los nombres genéricos.

La clasificación sólo es un intento para catalogar los organismos en forma que los haga fácilmente accesibles a los investigadores que con ellos trabajan. Describir un organismo por un nombre común o local que variaría en todo el mundo o cambiar constantemente el nombre científico de un organismo dado, conduce al caos y a una terminología inestable que estorbaría en gran manera el progreso de la investigación. Los intentos de clasificación, por tanto, no han tenido lugar con el propósito de crear mayor confusión, sino, por el contrario, de utilizar los conocimientos concernientes a las bacterias para caracterizarlas mejor.

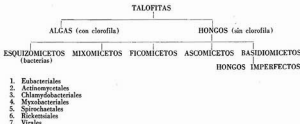
El problema es difícil. La mayor parte de los conocimientos bacteriológicos provienen de investigadores especializados, cada grupo de los cuales tiene particular interés en un solo campo.

Estos investigadores, dedicados con ahinco a estudiar principalmente lo que ciertas bacterias hacen, más bien que lo que son, no han tenido ni el tiempo, ni la inclinación, ni el entrenamiento requerido para enfocar la cuestión en su totalidad. Por lo tanto, un trabajo autorizado como el libro *Manual of Determinative Bacte-*

riology de Bergey, compilado por un Consejo de redacción después de consultar a numerosos especialistas de todo el campo de la Bacteriología, ha llegado a ser una referencia tipo, esencial para todos los bacteriólogos. Los agrupamientos poco conocidos y la introducción de nuevos nombres, como necesariamente ocurre, están basados no solamente en un intento de seguir las reglas establecidas de nomenclatura, sino también en un conocimiento más detallado de las bacterias a la luz de la investigación reciente.

Un sistema morfológico no es suficiente para diferenciar las bacterias, porque muchos organismos con propiedades totalmente diferentes tienen idéntica morfología. Con el fin de suministrar un criterio adicional para la identificación, se ha recurrido a las propiedades bioquímicas, antigénicas y patógenas. La diferenciación de las bacterias está basada en el estudio de todas las características de los organismos. De aquí que los sistemas modernos de clasificación utilicen el conocimiento de la morfología, características de coloración, fisiología, metabolismo, composición química, estructura antigénica, poder patógeno y virulencia de la bacteria. La morfología todavía se considera de importancia primaria en la clasificación de los grandes grupos, pero la forma, como los otros criterios, es de *importancia* variable según las categorías. En algunos casos, como en el de los estreptococos, las reacciones fermentativas son menos importantes que la acción sobre las células de la sangre. En otro, como el grupo tifo-disentérico, las diferencias fermentativas y la estructura antigénica lo son más que la morfología para la diferenciación. Los sistemas modernos de clasificación insisten en prestar importancia a un número creciente de características para estos diversos organismos. Las diferencias mínimas referentes a cultivo ya no se utilizan como criterio para establecer nuevas especies.

La posición de las bacterias entre otros seres vivos sigue indefinida, ya que estos organismos tienen caracteres que los relacionan con las algas azul-verdes, con los hongos y con los protozoarios. Como las bacterias no contienen clorofila, pero en conjunto manifiestan predominio de las características de las plantas, suelen incluirse en el reino vegetal. La relación entre las bacterias y las plantas más sencillas puede representarse gráficamente por el esquema adjunto.



La tabla de la página siguiente resume, en representación esquemática, algunas de las agrupaciones que aparecen en la sexta edición (1948) del *Manual* de Bergey.

En este libro se ha intentado seguir la terminología propuesta en el *Manual* de Bergey. En algunos casos se ha conservado el término antiguo, v.g., se ha usado *Staphylococcus*, en lugar de *Micrococcus*, para evitar un cambio demasiado com-

RESUMEN ESQUEMÁTICO DE UNA PARTE DEL MANUAL DE BERGEY (1948)
CLASE: ESQUIZOMICETOS

ORDEN	FAMILIA	GRUPO	GENERO	ESPECIE, ETC.
Eubacteriales	Pseudomonadaceae	Spirilleae	*Vibrio* *Spirillum*	Grupo cólera Fiebre por mordedura de rata
		Pseudomonadeae	*Pseudomonas*	Grupo piociánico
	Micrococcaceae		*Micrococcus* *(Staphylococcus)* *Gaffkya* *Sarcina*	Micrococos (Cocos piógenos) *M. tetragenus*
	Neisseriaceae		*Neisseria* *Veillonella*	Meningococo, Gonococo Cocos anaerobios
	Lactobacteriaceae	Streptococceae	*Diplococcus* *Streptococcus*	Neumococo Estreptococo
		Lactobacilleae	*Lactobacillus*	Grupo acidófilo
	Corynebacteriaceae		*Corynebacterium* *Listeria* *Erysipelothrix*	Difteria Monocitógenos Erisipeloide
	Achromobacteriaceae		*Alcaligenes*	*Alc. faecalis*
	Enterobacteriaceae	Escherichеae	*Escherichia* *Aerobacter* *Klebsiella*	Bacilo coli Grupo aerogenes Grupo Friedländer
		Erwineae	*Erwinia*	Patógenos de las plantas
		Serrateae	*Serratia*	*S. marcescens (B. prodigiosus)*
		Proteae	*Proteus*	Grupo proteus
		Salmonelleae	*Salmonella* *Shigella*	*S. typhosa (E. typhosa)* Grupo disentérico
	Parvobacteriaceae	Pasteurelleae	*Pasteurella* *Malleomyces* *Actinobacillus*	Septicemia hemorrágica, peste, tularemia Muermo Actinobacilosis
		Brucelleae	*Brucella*	Brucelosis
		Bacteroideae	*Bacteroides* *Fusobacterium*	Bacilos anaerobios Bacilos fusiformes
		Hemophileae	*Hemophilus* *Noguchia* *Dialister*	Grupo influenza Tracoma Grupo neumosintes
	Bacillaceae		*Bacillus* *Clostridium*	*B. anthracis* (aerobio) *Cl. tetani* (anaerobio)
Actinomycetales	Mycobacteriaceae		*Mycobacterium*	*Myco. tuberculosis*
	Actinomycetaceae		*Nocardia* *Actinomyces*	Actinomicetos aerobios Actinomicetos anaerobios
	Streptomycetaceae		*Streptomyces*	Actinomicetos del suelo

RESUMEN ESQUEMÁTICO DE UNA PARTE DEL MANUAL DE BERGEY (1948)
CLASE: ESQUIZOMICETOS *(Continuación)*

ORDEN	FAMILIA	GRUPO	GENERO	ESPECIE, ETC.
Chlamydobacteriales	No hay elementos patógenos en este orden			
Myxobacteriales	No hay elementos patógenos en este orden			
Spirochaetales	Spirochaetaceae		*Spirochaeta*	Saprófitos
	Treponemataceae		*Borrelia* *Treponema* *Leptospira*	Fiebre recurrente Sífilis Enfermedad de Weil
Rickettsiales	Rickettsiaceae		*Rickettsia*	Grupo de las fiebres con exantema
Virales	Virus agente de enfermedad			

pleto de la nomenclatura familiar. Tales casos, sin embargo, serán cada vez más raros en las revisiones futuras, después de una aceptación más general de los cambios propuestos en la sexta edición del libro de Bergey. Las bases para las nuevas agrupaciones de las bacterias según sus capacidades fermentativas, reacciones bioquímicas y relaciones inmunológicas serán dadas en forma apropiada en los capítulos siguientes.

BIBLIOGRAFIA

Bergey's *Manual of Determinative Bacteriology* by R. S. Breed, E. G. D. Murray, and A. P. Hitchens, Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1948, 6th ed.

La sexta edición de este *Manual* se publicó en enero de 1948. En este texto se han introducido las revisiones que han sido posibles, con el fin de ponerlo de acuerdo con las clasificaciones y nomenclatura del nuevo *Manual*.

BUCHANAN, R. E. *General Systematic Bacteriology*, 1925, Baltimore.

——BREED, R. S., and RETTGER, L. F. *J. Bacteriol.*, 1928, 16:387.

WINSLOW, C. E. A., BROADHURST, J., BUCHANAN, R. E., KRUMWIDE, C., JR., ROGERS, L. A., and SMITH, G. H. *J. Bacteriol.*, 1920, 5:191.

PARTE II

INFECCION E INMUNIDAD

CAPITULO XI

PODER PATOGENO Y VIRULENCIA

Se clasifica como patógeno a un microorganismo si es capaz de provocar enfermedad en animales susceptibles. En esta definición se han omitido deliberadamente términos como dosificación de microorganismos, vía de infección y resistencia del organismo animal, porque tales factores se relacionan más propiamente con la virulencia. La división de los microorganismos en patógenos, no patógenos y variedades intermedias es un medio muy conveniente de clasificación. Los bacilos tíficos y diftéricos, por ejemplo, deben clasificarse como patógenos, aunque hay muchas cepas de cada uno de estos organismos que son demasiado endebles para causar infección, a menos que la resistencia del huésped sea extremadamente baja o penetren en él bacterias en número elevadísimo. Por otra parte, algunas de las especies de bacterias encontradas en diferentes partes del organismo no son patógenas en ninguna circunstancia y si bien se cultivan a partir de lesiones, se puede reconocer inmediatamente que no tienen significación etiológica. Hay organismos que tienen una posición intermedia en tal clasificación. El bacilo coli, por ejemplo, es habitante constante del intestino normal y no puede producir enfermedad cuando no abandona la luz de éste. Sin embargo, estas bacterias pueden causar cistitis, pielitis, abscesos y septicemia. El aislamiento del colibacilo por hemocultivos efectuados *postmortem* es común, pero suele interpretarse como manifestación de la invasión agónica de la corriente sanguínea más que de verdadera infección.

La capacidad para producir enfermedad no se limita a los organismos que pueden adaptarse a vivir y multiplicarse en el cuerpo animal. *Clostridium botulinum* puede matar animales por su capacidad de producir una toxina potente en condiciones anaerobias. Esta bacteria es un saprófito absoluto y no puede prosperar en los tejidos vivos, pero por su capacidad de producir toxinas en productos alimenticios llega a ser una causa importante, por fortuna rara, de enfermedad. El bacilo del tétanos es también más saprófito que parásito en el sentido de que sólo puede multiplicarse en los tejidos muertos o privados de vitalidad. La infección por estos organismos sólo puede lograrse si son introducidos en la piel o tejidos subcutáneos junto con bacterias, polvo u otras substancias que debiliten los tejidos hasta permitir que las bacterias se desarrollen. Cuando el desarrollo de los organismos tiene lugar, producen un veneno que, disminuyendo más todavía la vitalidad de los tejidos, hace posible el progreso de la infección, iniciándose así un círculo vicioso que puede terminar en la muerte del animal atacado.

Virulencia es una palabra muy útil para designar el poder de causar enfermedad de un microorganismo particular y especialmente de una particular especie. Algunos investigadores consideran virulencia como sinónimo de poder patógeno; hay gran

variedad de interpretaciones acerca de la significación específica de ambas palabras. En nuestra opinión, sin embargo, debe considerarse como organismo virulento aquel que puede producir enfermedad aun cuando sea introducido en el cuerpo en dosis extremadamente pequeñas; de hecho, la virulencia sólo puede ser medida en términos de número de organismos que deben introducirse para causar enfermedad. Así, por ejemplo, los estreptococos hemolíticos del tipo A de Lancefield, en grupo, pueden clasificarse como microorganismos patógenos, porque la mayor parte de las cepas son capaces de causar algún tipo de infección. El hallazgo de tales estreptococos en la garganta de individuos normales no excluye la posibilidad de que sean patógenos porque pueden causar enfermedad en un individuo menos resistente, si penetran en él en número suficiente. Una raza virulenta de *Streptococcus hemolyticus* sería solamente aquella que se aislara de una infección muy grave o de gran número de individuos durante una epidemia también grave.

El término virulencia deriva de la palabra virus, que originalmente significaba veneno; en un principio la virulencia de un organismo estaba relacionada con su capacidad de producir una toxina. Según los conceptos modernos, la virulencia de un organismo depende de cierto número de factores, actuando por separado o en combinaciones diversas que varían en importancia, según las circunstancias particulares. Algunos de estos factores se describen a continuación.

Producción de toxina. Los venenos o toxinas que forman algunos de los microorganismos patógenos se clasifican en dos grupos generales: exotoxinas y endotoxinas. Con algunas excepciones, las exotoxinas se caracterizan por su inestabilidad, como se comprueba por la pérdida de toxicidad cuando se conservan o se calientan y por la naturaleza específica de sus efectos cuando se inyectan a los animales susceptibles. El criterio más importante que distingue una exotoxina de otras substancias tóxicas es su capacidad para estimular la producción de antitoxina en los animales. En algunas enfermedades, como el botulismo y el tétanos, la virulencia de la bacteria depende casi exclusivamente de la facultad de producir exotoxinas. La exotoxina producida por el bacilo diftérico es, con mucho, el factor de máxima importancia que hace tan peligrosa esta infección. Sin embargo, se ha demostrado que algunas cepas de bacilos diftéricos no productores de toxina matan a los ratones en inoculación intracerebral (Frobisher y Parsons, 1940); durante los últimos años se han aislado con frecuencia creciente bacilos no toxógenos de casos clínicos de difteria (Frobisher, Parsons y Updyke, 1947). Tales hallazgos no disminuyen la importancia de las exotoxinas en la difteria, pero sugieren que puede ser necesario considerar otros factores en los estudios concernientes a patogenia de la difteria. Otros organismos, como *Staphylococcus aureus* y *Shigella dysenteriae*, también producen exotoxinas potentes y dependen de otros factores de igual o mayor importancia en cuanto a virulencia.

Las endotoxinas son toxinas que se liberan al morir la célula y se obtienen por extracción *in vitro* o por autólisis *in vivo*. Las inyecciones de endotoxinas a los animales producen efectos no específicos, como abscesos estériles en el sitio de la inoculación, síntomas generalizados de toxemia y fiebre. Tales inyecciones no dan lugar a la formación de antitoxinas que neutralicen el efecto tóxico en grado significativo. Muchas de las bacterias patógenas contienen endotoxinas que se cree tienen importancia en la determinación de la virulencia del organismo, y muchos de los síntomas de ciertas enfermedades resultan indudablemente de la liberación de endotoxinas bacterianas a nivel de los tejidos. No está claro que las endotoxinas actúen sobre los tejidos favoreciendo el desarrollo local de las bacterias, pero es una suposición lógica que deben prosperar mejor en tejido mortificado por tal mecanismo. Confor-

me la enfermedad progresa y se forman en el organismo anticuerpos específicos para las bacterias, la destrucción bacteriana aumenta, resultando una liberación más rápida de endotoxinas y un aumento de la intensidad de los síntomas, contingencia adversa que no se puede evitar si el animal ha de sobrevivir.

Cápsulas. Muchas bacterias patógenas, como el neumococo y el bacilo del carbunco, poseen cápsulas bien definidas en el material obtenido de lesiones frescas y en los cultivos desarrollados en medios convenientes. También se han demostrado las cápsulas, aunque con cierta dificultad, en otras bacterias productoras de enfermedades; casi todos los autores admiten que los gérmenes patógenos pueden producir en condiciones adecuadas, por lo menos, cierta proporción de material capsular.

La relación de la cápsula con la virulencia bacteriana fué sugerida por vez primera por Danysz (1900) durante sus estudios sobre producción de resistencia de los bacilos del carbunco a las soluciones arsenicales. Las observaciones sobre los bacilos del carbunco fueron confirmadas por Preisz (1910); Gruber y Futaki (1906) observaron que los no capsulados eran fagocitados rápidamente en preparaciones que mostraban cómo los organismos capsulados seguían fuera de los leucocitos. Shibayama (1905-6) observó cápsulas en los bacilos de la peste; muchos otros observadores las han encontrado en bacilos de Friedländer, neumococos, estreptococos y otros organismos.

El problema de la resistencia de los organismos capsulados a la fagocitosis se aclaró como resultado de los estudios de química del material capsular obtenido de neumococos virulentos y la introducción del concepto de *hapteno*. En las secciones de este libro correspondientes a haptenos, fagocitosis y neumococos se darán mayores detalles al respecto; en general, el material capsular dota al organismo de virulencia por protegerlo de la fagocitosis y de la acción de anticuerpos. La fagocitosis eficaz requiere la sensibilización preliminar de la bacteria con anticuerpos específicos. El polisacárido capsular es muy soluble y se separa tan rápidamente de los neumococos vivos y muertos que difunde en forma igualmente rápida por todos los tejidos. Como el polisacárido tiene la propiedad de combinarse con los anticuerpos específicos, muchos de los anticuerpos formados por el organismo en respuesta a la infección se hacen ineficaces por no alcanzar la célula bacteriana y prepararla para la fagocitosis. De esta manera, los anticuerpos específicos son literalmente *puestos fuera de acción*.

El desarrollo de cápsulas puede considerarse esencialmente como un mecanismo bacteriano de defensa más bien que una arma ofensiva, porque el polisacárido no daña ni a los leucocitos ni a los tejidos. Este concepto está corroborado por el experimento de Avery y Dubos (1930) quienes aislaron una enzima de una fuente natural que descomponía el polisacárido específico de *Pneumococcus* tipo III y comprobaron que los animales de experimentación inoculados con neumococos virulentos podían ser protegidos contra la infección mortal por inyección de esta enzima (Avery y Dubos, 1931; Goodner, Dubos y Avery, 1932).

Leucocidina. Algunos cocos grampositivos, como los estafilococos y los estreptococos, producen substancias tóxicas que tienen la propiedad de matar los leucocitos *in vitro*. La leucocidina se puede determinar por una técnica basada en la facultad de los leucocitos de reducir el azul de metileno transformándolo en blanco de metileno (Neisser y Wechsberg, 1901). La leucocidina de *Staphylococcus aureus* está asociada con su exotoxina; su efecto es totalmente neutralizado por la antitoxina estafilocócica. La estreptoleucocidina sólo es débilmente antigénica; la antitoxina estreptocócica es casi impotente para proteger los leucocitos contra la acción dañina de la toxina.

No cabe duda que la virulencia de un organismo aumenta por su capacidad de producir una leucocidina, pero es muy difícil determinar la importancia relativa de este factor en las infecciones humanas. Hay diferencias considerables entre las leucocidinas producidas por diferentes cepas de un mismo organismo, y los leucocitos de diferentes animales varían en susceptibilidad a la acción de las toxinas.

Factor de difusión o hialuronidasa. Duran-Reynals (1928-29) fué el primero en señalar que las lesiones de la vacuna en conejos inoculados experimentalmente se hacían más extensas cuando se preparaba la piel por inyección de extractos acuosos de testículos de conejo, cobayo o rata. Se ha demostrado que la mayor parte de las bacterias, en particular estafilococos, estreptococos y neumococos, muchos organismos relacionados con la gangrena gaseosa, bacilos diftéricos y otros, son capaces de producir este factor de difusión. En contraste, los estudios de numerosas cepas de bacterias causantes de tuberculosis, peste, fiebre tifoidea, carbunco y otras infecciones no han permitido descubrir ninguna que produzca este material.

Numerosos estudios acerca de la naturaleza del factor de difusión han sido revisados por Duran-Reynals (1942); en general, el efecto del factor de difusión estriba en aumentar la permeabilidad de los tejidos, fenómeno que se puede demostrar fácilmente midiendo la difusión de la tinta china en la piel de los animales tratados con este factor. La piel y tejidos subcutáneos de los animales contienen una "substancia básica" viscosa que tiende a dificultar la penetración de materiales extraños, aun en estado líquido. También se ha observado que el factor de difusión contiene una enzima, hialuronidasa, que hidroliza el mucopolisacárido denominado ácido hialurónico, uno de los componentes de esta substancia básica. Recientemente, Haas (1946) ha sugerido el término *invasina* como sinónimo de hialuronidasa en sus publicaciones y ha descrito dos nuevas enzimas antagónicas, proinvasina y antiinvasina, que según él tendrían importancia para conservar el equilibrio del sistema enzimático.

Es indudable que la producción de hialuronidasa por una bacteria aumenta su poder infectante. Sin embargo, debe haber suficiente número de microorganismos para sacar ventaja de esta permeabilidad aumentada, puesto que la dispersión de sus fuerzas permite que el animal resista la infección. La supresión de la infección causada por bacterias poco virulentas o por pequeñas dosis de organismos de virulencia moderada, ha sido demostrada observando las lesiones producidas por organismos como el bacilo coli, *Staphylococcus albus* y otros inyectados junto con extractos testiculares (Duran-Reynals, 1933-35).

Lo dicho anteriormente acerca del poder invasor de las bacterias se ha incluído bajo el epígrafe de virulencia, porque nuestra concepción de este término se refiere a la capacidad del microorganismo para producir enfermedad. En ello diferimos de la interpretación de Topley y Wilson (1946) quienes distinguen entre poder invasor y virulencia, usando el primer término para indicar la rápida difusión por los tejidos y el último para señalar la propiedad de causar la muerte rápida de un animal infectado.

Fibrinolisina. Los cultivos en caldo de muchas cepas de estreptococo hemolítico tienen la propiedad de licuar rápidamente un coágulo sanguíneo. Se ha estudiado en otros organismos esta propiedad y se ha registrado actividad fibrinolítica en ciertas cepas de estafilococos, bacilos de la peste y otros, pero las reacciones son mucho más lentas y las diferencias inmunológicas permiten considerar a los estreptococos como únicos en este respecto.

La mejor prueba de que la producción de fibrinolisina está relacionada con la virulencia, se encuentra en el estudio de los estreptococos aislados de infecciones

en lo que se refiere a capacidad de licuar los coágulos. Así, Madison (1934) publicó que de 32 cepas de estreptococos hemolíticos aislados de infecciones graves como septicemia, neumonía, empiema y meningitis, 30, o sea el 94 por ciento, eran fibrinolíticas. De 123 cepas de lesiones superficiales como sinusitis, fístulas y erisipelas, sólo 21, o sea, el 17 por ciento, eran positivas. Dack, Woolport y Hoyne (1934) aislaron 25 cepas de mastoiditis postescarlatinosas y las 25 eran fibrinolíticas, mientras de 278 cepas procedentes de casos de escarlatina ordinaria sólo 28 dieron positivas las pruebas de fibrinolisina.

La fibrinolisina de estreptococos aislados de infecciones humanas es más eficaz para disolver los coágulos sanguíneos de origen humano; es lógico suponer que la difusión rápida de estreptococos virulentos puede ser facilitada por la producción *in vivo* de una substancia disolvente de la fibrina.

La fibrinolisina es antigénica, y la propiedad de los cultivos para licuar los coágulos puede neutralizarse con suero que contenga antifibrinolisina.

Coagulasa. El plasma sanguíneo citratado u oxalatado de hombres y conejos es coagulado rápidamente por estafilococos, en particular por cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas en clínica. Algunas cepas de otras bacterias, como el bacilo coli y *B. subtilis*, presentan también esta propiedad. La prueba ha tenido su mayor valor como medio de distinguir entre cepas patógenas y no patógenas de estafilococos. Casi todas las infecciones estafilocócicas tienden a localizarse y resulta difícil valorar el significado del poder hemocoagulante como factor de virulencia, pues la mayoría de los individuos poseen cierto grado de inmunidad adquirida por los estafilococos como resultado de repetidas y numerosas exposiciones a la acción del germen. Es posible que los estafilococos productores de coagulasa hayan desarrollado esta propiedad como defensa contra los productos de la inmunidad del paciente, pero esto no pasa de especulación.

La coagulasa es de poder antigénico dudoso; no se ha logrado producir anticoagulasa en los animales, si bien algunas muestras de plasma sanguíneo de pacientes infectados con estafilococos habían mostrado tendencia a coagular más lentamente en presencia de coagulasa.

Puerta de entrada. La vía por la cual las bacterias penetran en el organismo es de gran importancia para determinar si ocurrirá o no la enfermedad. Los bacilos tíficos frotados contra la piel denudada pueden no causar reacción de importancia, mientras que el mismo organismo por vía digestiva puede originar una infección mortal. Por otra parte, ciertos estreptococos hemolíticos pueden causar infección grave introducidos por la piel y no producir enfermedad cuando son ingeridos. Las toxinas, para ejercer sus efectos tienen también que ser introducidas en el cuerpo por vías apropiadas. Las enterotoxinas de *Staphylococcus aureus* causan intenso trastorno intestinal cuando son ingeridas; la toxina de *Clostridium botulinum* puede causar la muerte cuando se comen alimentos que la contienen. Sin embargo, la toxina estafilocócica mortal y las toxinas tetánicas y diftéricas pueden ser ingeridas en grandes cantidades sin causar síntoma alguno de intoxicación.

La puerta de entrada de las infecciones por virus es importante, no solamente por lo que se refiere a producir enfermedad, sino también en la determinación de los métodos adecuados de inmunización. Así, por ejemplo, el virus de la fiebre amarilla adaptado (por pases en el animal) para producir encefalitis por inoculación intracerebral produce inmunidad en los animales sin poner en peligro sus vidas, cuando este virus neurotrópico vivo penetra en ellos por vía subcutánea.

Dosificación. El número mínimo de organismos o la máxima dilución de una suspensión de virus que producen infección es el único criterio para estimar la viru-

lencia de una bacteria o virus particular. Una bacteria que ha sido cultivada en medios artificiales por largo tiempo pierde virulencia, medida por la cantidad de cultivo en caldo necesaria para producir signos de enfermedad. En su mayor parte, tal pérdida de virulencia se debe indudablemente al fenómeno de variación descrito en la Parte I. La pérdida de virulencia no debe imaginarse como debilitamiento uniforme y gradual del poder infectante de todos los organismos del cultivo, sino más bien como cambio gradual para constituir una mezcla de bacterias de virulencia variable. Este punto se puede ilustrar mejor por el aumento de virulencia de un cultivo mediante pases por animales susceptibles. Si se inyecta gran volumen de cultivo de una cepa poco virulenta, solamente se puede producir una enfermedad leve, ya que las defensas del animal infectado pueden destruir la mayor parte de las formas avirulentas o variantes. Los organismos cultivados a partir del animal, por tanto, sólo contendrán las bacterias que han sobrevivido en el cuerpo del animal, por lo cual los subcultivos contendrán un porcentaje mucho más alto de organismos virulentos y se producirá la enfermedad por inyección de un número menor. Por la repetición de inoculaciones y subcultivos se pueden obtener grados extremadamente altos de virulencia con la mayor parte de los cultivos potencialmente virulentos.

La estimación de la virulencia es de gran importancia en el trabajo experimental, particularmente en la comprobación de los efectos de diversas técnicas de inmunización y terapéutica; en todos los casos se deben especificar las condiciones del experimento en lo que respecta al volumen inoculado, vía de inoculación, tamaño, edad, peso y especies de animales a ser probados y otros factores. En algunos casos es necesario recurrir a métodos artificiales de aumento de virulencia para obtener resultado en animales que ordinariamente no son susceptibles a la infección con el organismo particular. Los ratones, por ejemplo, son relativamente poco susceptibles a la infección con bacilos tíficos, pero su tamaño y baratura los hace muy deseables para los estudios a base de inoculación. En este caso los organismos se introducen junto con almidón; así, la infección se puede producir fácilmente con los bacilos tíficos y es posible obtener uniformidad en la dosis de cultivo necesaria para producir la muerte.

En lo antedicho acerca de virulencia se insistió en los diversos factores dependientes de los organismos que podían guardar relación con la virulencia. Sin embargo, animales inoculados con dosis idénticas del mismo tubo de cultivo, con frecuencia presentan amplias variaciones en la susceptibilidad y por esta razón los investigadores están estimando cada vez más la virulencia como la dosis requerida para producir la muerte en la mitad de los animales inoculados (D. $L._{50}$) en lugar de la dosis letal mínima (D. L. M.) La D. $L._{50}$ es de particular valor para titular la infecciosidad de los virus. La técnica de ambos tipos de titulación se describirá más tarde.

Por inmunidad innata entendemos los factores de resistencia que no son adquiridos por los animales durante su vida en respuesta a contactos con los microorganismos. La inmunidad relativa de los niños para ciertas enfermedades, resultante de la transmisión pasiva de los anticuerpos maternos a través de la placenta, no se considera como ejemplo de inmunidad innata, porque depende del estado de inmunidad de la madre y no es característica intrínseca del animal recién nacido.

La colocación en categorías separadas de la inmunidad natural y de la inmunidad adquirida es algo artificial ya que en muchos casos ambos factores son importantes para el desarrollo de la resistencia. Es bien sabido, por ejemplo, que los animales más viejos son mejores productores de anticuerpos que los individuos jóvenes de la misma especie, por lo que la resistencia específica a una enfermedad infecciosa se desarrollará en mayor grado y más rápidamente en el individuo más viejo. El des-

arrollo de resistencia por formación de anticuerpos específicos, por definición es considerado como ejemplo de inmunidad adquirida, pero las variaciones en la eficiencia de los mecanismos de producción de anticuerpos resultan de factores no específicos más estrechamente relacionados con circunstancias tales como edad, dieta y constitución del individuo.

Esta Parte se refiere extensamente a los diversos factores que intervienen en la inmunidad adquirida, porque entender los principios básicos de la inmunidad adquirida es de la mayor importancia para las personas responsables del tratamiento y vigilancia de las enfermedades infecciosas, mientras que ninguno de los factores que incluye la inmunidad natural son susceptibles de alteración artificial.

Es costumbre subdividir la inmunidad natural en tres tipos generales: inmunidad de especie, inmunidad racial e inmunidad individual, pero hay otros factores generales que habrán de ser considerados primero.

Factores generales en la inmunidad natural. La piel sana intacta constituye una barrera formidable para el ingreso de la mayor parte de los organismos patógenos, aunque algunas bacterias, como *Pasteurella tularensis*, al parecer pueden entrar a través de la piel sin solución de continuidad visible. El papel de las barreras epiteliales naturales para prevenir la infección se puede ilustrar por la rareza de la vaginitis gonorreica en adultos comparada con la susceptibilidad extrema de la membrana vaginal para la infección gonocócica en la infancia. Después de la pubertad hay un engrosamiento de las capas epiteliales de la vagina, que explica el fracaso del gonococo para infectar este órgano, si bien las glándulas que rodean la vulva, el cuello y las trompas de Falopio se infectan con facilidad. La delgada membrana vaginal de la niña es muy susceptible a la infección; antes del descubrimiento de las sulfonamidas y la penicilina, una de las numerosas medidas empleadas en el tratamiento consistía en inyectar substancias estrogénicas para estimular el engrosamiento prematuro de las capas epiteliales.

Los pelos de la nariz y los movimientos de los cilios en las vías respiratorias superiores tienen cierta importancia en la retención de microorganismos, en particular los acarreados por el aire, en partículas de polvo o en gotitas.

Algunas de las secreciones normales del cuerpo tienen efectos bacteriostáticos y bactericidas. La lisozima es una substancia termoestable presente en varias secreciones, pero con más abundancia en las lágrimas, en menor proporción en el esputo y secreciones nasales y en cantidad muy pequeña en la sangre y tejidos (Fleming y Allison, 1922). La lisozima disuelve muchas bacterias no patógenas, pero su efecto bacteriolítico varía según el material en el que se encuentra la enzima; los estreptococos hemolíticos, por ejemplo, sólo son afectados por la lisozima obtenida de las lágrimas (Fleming, 1929).

El desarrollo de los bacilos diftéricos en cultivos se inhibe por una substancia existente en la saliva de los individuos normales (Dold, 1935); cepas de neumococos virulentas para el ratón han sido transformadas en organismos relativamente avirulentos después del contacto con saliva (Pesch y Damm, 1936). Los experimentos de Thompson y Shibuya (1946) indican que el agente activo de la saliva que inhibe el desarrollo de los bacilos diftéricos es un metabolito de ciertos estreptococos del grupo viridans, ya que la acción inhibitoria de la saliva no se puede demostrar cuando se eliminan los estreptococos por diversos medios. De este trabajo, y del de otros que han estudiado los antagonismos bacterianos, resulta evidente que la flora bacteriana normal de diversas partes del cuerpo puede tener influencia en el aumento de resistencia del huésped por reducir la virulencia o producir substancias bacteriostáticas que afectan a algunos de los gérmenes patógenos.

La parte superior del tubo gastrointestinal normal suele conservarse estéril debido a la acción del jugo gástrico, lo cual puede explicar, en parte, por qué algunos individuos escapan a la infección después de ingerir alimentos contaminados con bacilos tíficos y otros patógenos intestinales, mientras que otras personas adquirirán la enfermedad por comer cantidades similares de alimento de la misma fuente.

Clases de inmunidad. Muchas de las enfermedades infecciosas que comúnmente afectan al hombre no ocurren espontáneamente en los animales. Las infecciones con bacilos tíficos, vibrión colérico o meningococos en los animales sólo se producen después de la inoculación experimental y el cuadro de la enfermedad con frecuencia es totalmente diferente del que se observa en el hombre.

Entre las especies animales hay grandes diferencias en cuanto a susceptibilidad para las diversas infecciones. Las ratas y perros son muy resistentes al carbunco; las aves comunes son inmunes al tétanos. Las condiciones que rigen tales diferencias de resistencia son obscuras; lo más probable es que intervengan en ello muchos factores. En algunos casos, diferencias en la temperatura pueden explicar las variaciones en la susceptibilidad; la gallina, por ejemplo, no puede ser infectada con bacilos del carbunco, a menos que se haga bajar la temperatura corporal por inmersión parcial en agua fría. El bacilo de la tuberculosis aviaria, que está adaptado a temperaturas de 40° C. o más en las aves infectadas, y que puede ser cultivado en medios artificiales a temperaturas que varían entre 40° y 50° C., rara vez causa enfermedad en el hombre. Es más difícil de evaluar la importancia de otros factores que influyen en las diferencias de resistencia de las especies.

Inmunidad racial. Las diversas razas o variedades dentro de la misma especie animal con frecuencia muestran diferencias manifiestas en el grado de resistencia a ciertas infecciones. La oveja de Argel, por ejemplo, presenta mayor resistencia al carbunco que nuestra oveja doméstica y las diversas razas de ratones difieren en su susceptibilidad para el carbunco y el muermo.

Diferencias similares son comunes entre las diferentes razas humanas. Los negros, por ejemplo, son mucho menos resistentes a las formas graves de tuberculosis que los individuos pertenecientes a las razas blancas. Parte de esta diferencia en la susceptibilidad puede estar relacionada con factores como las condiciones de vida, dieta, hábitos y falta de educación, pero los datos sobre tuberculosis entre las razas blanca y de color en el Ejército Americano han demostrado que la proporción de casos mortales entre los negros tuberculosos es aproximadamente tres veces mayor que entre los blancos. La frecuencia de la infección es aproximadamente la misma y factores tales como condiciones de vida, dieta, momento del diagnóstico y calidad de los cuidados médicos son prácticamente iguales en los dos grupos.

Inmunidad individual. Entre los pequeños animales usados en experimentos bacteriológicos hay cierto grado de uniformidad en cuanto a susceptibilidad para ciertas infecciones y acción de las toxinas. Las variaciones en la resistencia de los individuos se pueden mantener dentro de un mínimo por la vigilancia cuidadosa de la cría, la alimentación y los cuidados generales de tales animales. Aun bajo estas condiciones ideales, las variaciones en la resistencia individual son tan comunes que para determinar con exactitud la D. L_{50} es necesario emplear grupos de animales.

Las variaciones de resistencia entre diferentes personas son mucho mayores que las observadas en animales de experimentación, porque no se pueden controlar las condiciones antedichas. En toda exposición amplia a la infección algunos escaparán enteramente a la infección, otros desarrollarán infecciones subclínicas y otros contraerán la enfermedad. En los individuos que desarrollan la enfermedad se observarán todos los grados posibles de gravedad y algunos sucumbirán.

Tales variaciones extremas en las manifestaciones clínicas son características de la mayor parte de las infecciones y contribuyen a hacer del estudio de las enfermedades infecciosas la rama más fascinante de la clínica.

BIBLIOGRAFIA

Avery, O. T., and Dubos, R. J. *Science*, 1930, 72:151.
——— *J. Exper. M.*, 1931, 54:73.
Dack, G. M., Woolpert, O. C., and Hoyne, A. L. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1934, 32:1431.
Danysz, J. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1900, 14:641.
Dold, H. *Zentr. f. Bakt.*, Abt. I Orig., 1935, 135:69.
Duran-Reynals, F. *Compt. rend. Soc. de biol.*, 1928, 99:6.
——— *J. Exper. M.*, 1929, 50:327; 1933, 58:451; 1935, 61:617.
——— *Bacteriol. Rev.*, 1942, 6:197.
Fleming, A. *Lancet*, 1929, 1:217.
——— and Allison, V. D. *Brit. J. Exper. Path.*, 1922, 3:252.
Frobisher, M., and Parsons, E. I. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1940, 45:165.
——— Parsons, E. L., and Updyke, E. *Am. J. Pub. Health*, 1947, 37:543.
Goodner, K., Dubos, R. J., and Avery, O. T. *J. Exper. M.*, 1932, 55:393.
Gruber, M., and Futaki, K. *München. med. Wchnschr.*, 1906, 53:249.
Haas, E. *J. Biol. Chem.*, 1946, 163:63, 89, 101.
Madison, R. R. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1934, 31:1018.
Neisser, M., and Wechsberg, F. *Ztschr. f. Hyg. u. Infectionskrank.*, 1901, 36:299.
Pesch, K. L., and Damm, R. *Ztschr. f. Hyg. u. Infectionskrank.*, 1936, 118:1.
Preisz, H. *Centralbl. f. Bakt.*, I. Abt., 1910, 55:503.
Roth, R. B. *Am. Rev. Tuberc.*, 1938, 38:197.
Shibayama, G. *Centralbl. f. Bakt.*, I. Abt., 1905, 38:482; 1906, 42:144.
Thompson, R., and Shibuya, M. *J. Bacteriol*, 1946, 51:671.
Topley, W. W. C., and Wilson, G. S. *The Principles of Bacteriology and Immunity*, William Wood & Co., Baltimore, 1946.

CAPITULO XII

FACTORES DEFENSIVOS DEL ORGANISMO ANIMAL

Tratar de la multitud de factores que intervienen en el proceso de una enfermedad infecciosa resulta sumamente difícil porque es imposible estudiar uno cualquiera de los factores sin referirse a los otros. En los primeros estudios de los fenómenos de infección y resistencia se obtuvieron datos muy significativos, pero debido a las técnicas imperfectas entonces existentes, los experimentadores se veían forzados a limitar la observación a una fase del problema y quizá a valorar en exceso la significación de observaciones aisladas. Los resultados de estos primeros experimentadores fueron en extremo importantes para establecer los datos básicos que constituyen los cimientos de la inmunología moderna; se han conservado muchos de los términos que ellos crearon, pero, por desgracia, solamente después de haber sufrido alteraciones notables en su significado e interpretación.

Los cambios sucesivos en el significado de la palabra *vacuna* sirven de ejemplo. Jenner, en 1789, descubrió que el hombre podía ser protegido contra la viruela si previamente había sido inoculado con el material obtenido de las pústulas de la vaca o *vacuna variólica*. Casi 100 años después, Pasteur observó que los cultivos viejos de los organismos causantes del cólera de las gallinas no producían enfermedad en las aves, y que las aves así tratadas no eran susceptibles a la enfermedad cuando se les inyectaban organismos que conservaban toda su virulencia. La similitud de sus resultados con los de Jenner lo indujo a referirse a los cultivos atenuados como una vacuna, porque podían producir un estado de resistencia en animales que antes fueron susceptibles. Aunque después se comprobó que la vacuna de Jenner era un virus y la de Pasteur un cultivo vivo atenuado de bacterias, la significación de la palabra vacuna se extendió para incluir una suspensión amortiguada de bacterias virulentas siempre que tuviera la propiedad de incitar la resistencia específica a la infección. Es asimismo interesante que los productos bacterianos hechos atóxicos, como los toxoides, cuando se inoculan tienen también la propiedad de producir resistencia a las inyecciones posteriores de dosis mortales de la toxina; pero no es costumbre denominar vacunas a tales substancias. Los veterinarios aplican siempre el término vacuna a los cultivos vivos empleados con el propósito de lograr protección consecutiva contra las infecciones específicas y reservan la palabra *bacterina* para los cultivos muertos de organismos empleados con el mismo propósito. Los médicos usan aún la palabra vacuna para designar el virus de las pústulas variolosas de la vaca, pero también lo aplican a casi todas las suspensiones de bacterias muertas, aun en el caso de que la inyección no sea para estimular al paciente a elaborar un estado de resistencia específica contra el microorganismo.

La palabra *inmunidad* debe ser también interpretada a la luz de los conceptos modernos. Usada originalmente para indicar un estado de no susceptibilidad para una enfermedad, se reconoce ahora que no puede indicar resistencia completa, sino más bien un atributo variable dependiente de la dosis, virulencia y vía de entrada de un agente infeccioso específico. En algunos casos, el animal es resistente porque los leucocitos, con la ayuda de los anticuerpos específicos, son capaces de fagocitar

y destruir las bacterias que llegan a penetrar en sus tejidos; en otros, el animal puede sobrevivir a la enfermedad por su capacidad de neutralizar los productos tóxicos de las bacterias infectantes. También hay diferencias netas entre las especies animales en resistencia a un organismo; en ciertas infecciones humanas son importantes para la susceptibilidad las diferencias raciales. Otros factores, como edad y sexo, pueden ser la razón fundamental de variaciones significativas en la reacción del organismo a ciertos microbios. El grado de inmunidad también puede variar según el estado de nutrición y condiciones como el clima.

Se puede producir inmunidad relativa para ciertos microorganismos en condiciones naturales, como son las repetidas exposiciones a dosis subinfectantes de organismos virulentos, o por medidas artificiales como la inyección de vacunas o productos bacterianos hechos atóxicos. La inmunidad para algunos microorganismos está ligada a la aparición en la corriente sanguínea de anticuerpos específicos, con frecuencia en cantidades tan grandes que la inyección del suero de tal animal a otro animal susceptible confiere resistencia suficiente para asegurar la supervivencia del receptor a una infección que de otra manera habría resultado mortal.

Un animal que ha logrado un grado de resistencia suficientemente bueno como resultado de exposiciones naturales a microorganismos vivos, o por inyección de vacuna, se dice que está *inmunizado*. Por desgracia, este término, como los otros, ha ampliado su significado. Como el estado de inmunidad en muchas enfermedades va acompañado de aparición de anticuerpos específicos en la sangre, el término inmunización se usa con frecuencia para referir el proceso de inyectar vacunas, toxoides u otros materiales con el propósito de estimular la producción de anticuerpos. Se verá, sin embargo, que los anticuerpos no siempre tienen acción protectora y que ciertos estados patológicos son causados por la reacción de anticuerpos a agentes innocuos. Se puede producir un choque anafiláctico fatal por inyección de substancias inofensivas, como un suero extraño, a animales que previamente han formado anticuerpos para la substancia específica. Tales animales se denominan a veces inmunizados, aunque es algo paradójico que un animal *inmunizado* haya de sucumbir a la inyección de un material como albúmina de huevo, inofensivo para los animales normales o *no inmunes*.

Los signos y síntomas de una enfermedad infecciosa resultan directamente de la acción entre los organismos vivos multiplicándose y las reacciones defensivas del huésped infectado. Un animal inmune o completamente resistente no debe presentar signos de enfermedad ya que los organismos infectantes no pueden establecerse firmemente en sus tejidos. Un animal no resistente en absoluto sólo presentará síntomas mínimos porque la infección en tales circunstancias lo matará antes que puedan entrar en juego sus defensas. En circunstancias ordinarias la mayor parte de los animales posee cierto grado de resistencia y en las infecciones adquiridas naturalmente los microorganismos no penetran en número suficientemente grande para arrollar por completo todos los mecanismos defensivos del animal. Probablemente, inmensa mayoría de enfermedades infecciosas son las que ocurren en pacientes dotados de cierta resistencia que son infectados con organismos de virulencia moderada. Las cepas extremadamente virulentas tienden a eliminarse por sí mismas del campo de las enfermedades infecciosas clínicas, porque su supervivencia depende de una sucesión continua de huéspedes susceptibles; y si ellos producen una enfermedad rápidamente mortal, las oportunidades para pasar a nuevos huéspedes quedan muy reducidas. Por esto, en un largo período de años, algunas de las enfermedades infecciosas han cambiado en sus manifestaciones clínicas, en parte por la eliminación gradual de las cepas de virulencia demasiado

alta, que han sido sepultadas con sus víctimas, y en parte porque las generaciones posteriores de los núcleos de población humana son descendientes de individuos que tuvieron resistencia natural suficiente para sobrevivir a tales infecciones. El cuadro clínico de la sífilis ha cambiado notablemente en los últimos 300 años; durante este tiempo la enfermedad se ha hecho una infección mucho más leve y menos aguda. Esto no significa que el problema de la sífilis esté desapareciendo; por el contrario, tiene importancia creciente, por lo que se refiere al hombre. El hecho de que las manifestaciones clínicas de la infección sifilítica primaria sean en extremo leves explica la difusión de la enfermedad por personas que ignoran por completo el hecho de que están infectadas. El bacilo tuberculoso es otro ejemplo de microorganismo que produce una infección bastante común en el hombre a causa de su adaptación a un estado de parasitismo casi ideal. Como permite a las personas infectadas vivir durante años, aumentan las probabilidades de existencia con las oportunidades para difundir la infección a otros individuos.

Al considerar en conjunto el problema de la enfermedad infecciosa debe tenerse presente que el agente infectante es un organismo vivo que puede, para su supervivencia, adaptarse de una manera continua a las alteraciones del medio ambiente aportados por los mecanismos de defensa del huésped. Las reacciones de inmunidad del organismo animal deben ser consideradas también como sujetas a cambios continuos en respuesta a las necesidades urgentes creadas por la presencia en los tejidos de organismos vivos que pugnan por sobrevivir.

Clasificación de la inmunidad. Es costumbre admitir dos tipos de inmunidad: la natural o innata y la adquirida.

CLASIFICACIÓN DE LA INMUNIDAD

A. Inmunidad natural (innata).
B. Inmunidad adquirida.
  1. Inmunidad activa.
    a) Inmunidad activa adquirida naturalmente.
    b) Inmunidad activa adquirida artificialmente.
  2. Inmunidad pasiva.
    a) Inmunidad pasiva adquirida naturalmente.
    b) Inmunidad pasiva adquirida artificialmente.

El término inmunidad innata se emplea para indicar los mecanismos de resistencia que no son adquiridos durante la vida de un individuo y están, por tanto, relacionados con circunstancias como raza, constitución y multitud de factores difíciles de definir. Nuestra falta de conocimiento preciso acerca de estos factores se debe, sin duda, a que no se pueden modificar las variables experimentalmente. Aunque se han llevado a cabo algunas investigaciones de este tipo en animales, poca es la información que cabe obtener acerca de este tipo de inmunidad en el hombre, excepto la derivada indirectamente de estudios estadísticos de morbilidad y mortalidad en grandes grupos de población.

La información concerniente a inmunidad adquirida es mucho más completa por las muchas alteraciones que ocurren durante la vida del individuo; en muchas infecciones los métodos para determinar los anticuerpos se han desarrollado a tal grado que los resultados de los exámenes serológicos pueden relacionarse con los hallazgos clínicos observados durante el progreso de la enfermedad y después del restablecimiento. Los resultados de medidas profilácticas como la inmunización artificial pueden ser valorados por tales métodos serológicos; el grado de protección obtenida se puede comprobar frecuentemente comparando la morbilidad y la mortalidad en individuos inmunizados y en los que no lo están.

La inmunidad adquirida es específica; suele subdividirse en dos grupos principales: inmunidad activa y pasiva. La inmunidad activa se refiere a la inmunidad específica creada por un individuo en respuesta a la introducción en su organismo de microorganismos o toxinas. Tal inmunidad puede obtenerse espontáneamente —inmunidad activa adquirida naturalmente— o como resultado de la inmunización deliberada con una vacuna o con toxoides —inmunidad activa adquirida artificialmente—. El más alto grado de inmunidad activa adquirida naturalmente se observará en individuos que han tenido una enfermedad como sarampión o fiebre tifoidea y se han restablecido. Otros individuos pueden gozar de resistencia específica a ciertas enfermedades a consecuencia de infecciones tan leves que no fueron reconocidas clínicamente. Otros, finalmente, pueden adquirir inmunidad activa por exposiciones repetidas a muy pequeñas cantidades de organismos virulentos. Este tipo de inmunidad se desarrolla lentamente, pero es muy duradera.

La inmunidad adquirida artificialmente se produce por inyección de materiales microbianos con el propósito expreso de estimular las células del organismo para que fabriquen sus propios anticuerpos. En algunos casos se utilizan las bacterias, como en las vacunas tíficas y en las de tos ferina; en otros, se inoculan virus modificados, como en la vacuna antivariólica; se puede producir inmunidad a las toxinas por inyección de toxoides. Rara vez se emplean bacterias vivas atenuadas por el peligro de producir la infección, pero se están obteniendo excelentes resultados de vacunación contra la tuberculosis con B. C. G. (Bacilo Calmette-Guerin), un organismo vivo, en ciertas zonas donde la frecuencia de la infección y la proporción de casos mortales son muy elevadas. Este tipo de inmunidad, como la inmunidad activa adquirida naturalmente, es elaborada lentamente, pero resulta más durable. Los procesos que se emplean para hacer innocuas las vacunas, tales como la inactivación por el calor, métodos químicos o radiaciones con luz ultravioleta, no pueden evitar la producción de pequeños cambios en la estructura antigénica, que los transforman en agentes inmunizantes algo menos eficaces que los organismos originales.

La inmunidad pasiva se refiere a la protección deparada por la introducción en el individuo de anticuerpos contenidos en el suero de otro individuo que ha sido inmunizado activamente. En tales casos, las células del organismo del animal o persona que recibe la protección no son estimuladas para formar nuevos anticuerpos. Este tipo de inmunidad puede ocurrir en condiciones naturales —inmunidad pasiva adquirida naturalmente—; es ejemplo de ello la resistencia para ciertas infecciones de los recién nacidos que han recibido anticuerpos maternos a través de la placenta. La inmunidad pasiva adquirida artificialmente se refiere al tipo de protección lograda cuando se inyecta en el organismo de un paciente el suero de una persona o animal inmunes. Este tipo de inmunidad tiene su mayor utilidad en el tratamiento de ciertas infecciones porque los anticuerpos protectores se pueden suministrar inmediatamente y en gran cantidad. La inmunidad resultante, sin embargo, es de corta duración; si el individuo es tratado antes que sus propias células sean estimuladas para formar anticuerpos, pronto queda tan sensible a la infección como si nunca hubiera estado infectado.

Como los antígenos y anticuerpos y sus reacciones se pueden estudiar por métodos experimentales, y en ocasiones se pueden medir cuantitativamente, el conocimiento de los factores que operan en la infección y resistencia ha aumentado considerablemente. Las técnicas basadas en el estudio de los anticuerpos del suero se han desarrollado en tal grado que con frecuencia es más fácil y práctico establecer el diagnóstico de algunas infecciones por métodos serológicos que aislando e

identificando los organismos causantes. La serología también es útil para determinar la frecuencia de ciertas enfermedades infecciosas en grandes núcleos de población ya que se pueden descubrir los anticuerpos en los sueros de los individuos después que los microorganismos han desaparecido del cuerpo. Los métodos serológicos con frecuencia son tan delicados que se pueden utilizar para identificar bacterias y descubrir variaciones entre gérmenes que parecen idénticos tanto en forma como en actividad fisiológica.

Aunque es riquísima la información sobre reacciones antígeno-anticuerpo y son pocos los datos concernientes a otros factores de la inmunidad, sería erróneo suponer que aquéllas son las más importantes.

El término inmunología debería incluir todos los factores relacionados con la resistencia, de los cuales la serología es parte importante. Los hallazgos serológicos en pacientes infectados, por lo tanto, deberán valorarse según el estado clínico del individuo y las peculiaridades del microorganismo causante de la enfermedad. Los resultados de un solo examen serológico pueden ser útiles para el diagnóstico o el pronóstico, pero únicamente deben considerarse como un dato clínico accesorio.

CAPITULO XIII

ANTIGENOS Y ANTICUERPOS

Antígenos son aquellas substancias que tienen la propiedad de estimular la formación de anticuerpos específicos una vez introducidas en el animal.

Anticuerpos son globulinas, modificadas por el organismo animal en respuesta a la introducción de antígenos; tienen la propiedad de reaccionar específicamente con el antígeno particular inyectado.

ANTIGENOS

Como un antígeno sólo puede ser definido en términos de anticuerpos, el poder antigénico de una substancia sólo puede llegarse a medir por la cantidad de anticuerpo producida en respuesta a la inyección de una cantidad determinada de antígeno.

El poder antigénico de una substancia no guarda relación con su capacidad de producir enfermedad o daño a los tejidos; ciertos materiales totalmente innocuos, como la albúmina de huevo o sueros extraños, pueden provocar la formación de anticuerpos al igual que substancias nocivas como la toxina diftérica, venenos de serpientes, virus y bacterias.

Con el objeto de poder probar el poder antigénico de una substancia es esencial que el animal sea inoculado por vía parenteral. Aunque algunos antígenos pueden ser absorbidos por el tracto intestinal, no es posible medir la cantidad real de material inalterado que alcanza los tejidos del organismo, pues no cabe estimar el grado de acción de los jugos gástricos e intestinal, ni la absorción.

Los primeros investigadores de las reacciones antígeno-anticuerpo usaron la palabra antígeno para designar el material que se utilizaba en el tubo de ensayo para descubrir la presencia de anticuerpos en el suero, porque este material era el mismo que el empleado para inyectar al animal. Sin embargo, los estudios posteriores sobre química de antígenos han demostrado que ciertas agrupaciones químicas son causa de la naturaleza específica de la reacción antígeno-anticuerpo y que la parte del antígeno que determina la especificidad frecuentemente puede separarse del resto de la molécula. Sucede con frecuencia que la separación disminuye tanto el peso molecular, que las substancias responsables de la especificidad ya no provocan la formación de anticuerpos cuando se inyectan a los animales. No obstante, tales substancias aun son capaces de reaccionar en el tubo de ensayo con los sueros que contienen anticuerpos específicos formados en respuesta a la inyección de los antígenos originales de alto peso molecular. Las substancias específicas que no son antigénicas por inoculación animal se llaman antígenos parciales o haptenos, en contraste con los verdaderos incitadores de anticuerpos que se denominan antígenos completos.

Con algunas excepciones, los antígenos completos son de peso molecular elevado, ajenos al organismo del animal productor de anticuerpos y de naturaleza proteínica.

Peso molecular. La mayor parte de los antígenos completos tienen pesos moleculares de 10 000 o más; las toxinas diftéricas y las seroalbúminas tienen pesos moleculares alrededor de 70 000; se han encontrado valores tan elevados como 6 000 000 y más para algunas hemocianinas. Las moléculas tan grandes no dializan a través de las membranas ordinarias.

Estructura química. La mayor parte de los antígenos completos son proteínas, pero no todas las proteínas son antigénicas; así, por ejemplo, la gelatina, que se compone principalmente de diaminoácidos, no es antígeno. El poder antigénico de las proteínas se destruye rápidamente por escisión; aun los productos de alta complejidad, como polipéptidos y proteosas, no tienen propiedades antigénicas.

La especificidad de un antígeno guarda relación con su estructura química. En el libro de Landsteiner (1946) puede leerse una revisión de este tema. Los estudios más fructíferos acerca de relación entre estructura química y especificidad se han realizado utilizando compuestos químicos sencillos que se hacen antigénicos al unirse con proteínas. Para ilustrar un grado extremo de especificidad se citan experimentos de Landsteiner y Van der Scheer (1929). Estos autores seleccionaron ácidos levo-, dextro- y meso-tartáricos y los convirtieron en levo-, dextro- y meso-paraaminotartranílicos. Estos ácidos entonces fueron diazoados y ligados a la seroproteína del caballo. Los conejos inyectados con cada uno de los tres compuestos producían anticuerpos que fueron comprobados con substancias que contenían cada uno de los tres ácidos tartranílicos, pero ligados esta vez a la seroproteína del pollo. En la siguiente tabla se dan los resultados de la prueba de cada suero con cada antígeno. Los datos seleccionados de la tabla de Landsteiner y Van der Scheer, sólo incluyen las estimaciones del precipitado formado durante la noche en la nevera (0, ligeros indicios, +, ++, +++) en mezclas que contenían 0,2 c.c. de una dilución de cada antígeno al 1:100 y cuatro *gotas capilares* de cada suero que contenía anticuerpos.

	Antígenos		
	levo- C—O—O—H H—O—C—H H—C—O—H C—O—O—H	dextro- C—O—O—H H—C—O—H H—O—C—H C—O—O—H	meso- C—O—O—H H—C—O—H H—C—O—H C—O—O—H
Antisuero			
levo-	+++	lig. indicios	+
dextro-	0	+++	+
meso-	lig. indicios	0	+++

(Según Landsteiner y Van der Scheer, *J. Exp. Med.*, 1929, 50:407.)

La tabla demuestra con claridad que los mecanismos productores de anticuerpos pueden ser suficientemente sensibles para distinguir entre compuestos químicos, cuyas únicas diferencias estriban en la disposición espacial de sus componentes.

Aunque Uhlenhuth, en 1905, señaló que la goma arábiga, un carbohidrato, era antigénica, sólo mucho después se apreció por la mayor parte de los investigadores la importancia de los hidratos de carbono como generadores de anticuerpos. Además, las pruebas para demostrar el poder antigénico se limitaban generalmente a inyectar conejos porque estos animales producen anticuerpos en cantidad y rápidamente. Sin embargo, Avery y Goebel (1933) probaron de manera conclu-

yente que el polisacárido acetilado del neumococo de tipo I era antigénico en los ratones y que la inyección de cantidades totales tan pequeñas como 0,00075 mg originaban anticuerpos bastantes para proteger al animal contra muchas dosis mortales de neumococos virulentos de tipo I. La inyección de la misma substancia a los conejos no producía la menor cantidad de anticuerpos. También se ha demostrado que el hombre puede inmunizarse activamente por inyección de polisacáridos de neumococo de tipo I (Francis, 1934). Los cobayos, las ratas, las ovejas y los conejos no responden a las inyecciones de polisacáridos, mientras que el material es antigénico en caballos, gatos y perros, así como en ratones y hombres (Horsfall y Goodner, 1936).

Las propiedades antigénicas de los lipoides no han sido investigadas tan completamente como las de proteínas y carbohidratos complejos. Se han inyectado substancias lipoides como lecitinas y colesterol, solas o mezcladas con proteínas, pero los resultados de estos experimentos son equívocos. En cuanto a los antígenos de Forssman, que estudiaremos más adelante, se sabe que contienen carbohidratos haptenos (Landsteiner y Levine, 1932), por lo cual ya no se pueden citar como prueba de que los lipoides sean antigénicos.

Los estudios experimentales sobre estructura química de los antígenos y particularmente la demostración de la especificidad extraordinaria de substancias como los haptenos han planteado numerosas cuestiones que han confundido a los clínicos durante muchos años. Es bien sabido, por ejemplo, que el hombre puede enfermar gravemente si se desarrolla un estado de hipersensibilidad para ciertas substancias como ambrosía, polvo casero y otros materiales enteramente innocuos. También se ha sabido que esta hipersensibilidad resulta de la formación de anticuerpos, como se puede demostrar rápidamente por la técnica de Prausnitz-Küstner. Sin embargo, la mayor parte de las substancias responsables del estado de hipersensibilidad no son antígenos completos, en cuanto no estimulan la formación de anticuerpos, por lo menos en conejos. Es posible, por supuesto, que tales substancias sean antigénicas en el hombre, ya que se ha demostrado que éste puede formar anticuerpos con los haptenos del neumococo. Otra posibilidad es que los haptenos, por algún medio, lleguen a ligarse a las proteínas del hombre, convirtiéndolas así en antígenos completos.

En general, los antígenos deben ser extraños al organismo, porque sería desastroso para un animal elaborar substancias antagónicas de sus propios tejidos. Así, los conejos pueden crear anticuerpos específicos cuando se les inyectan sueros de otras especies animales, pero no con inyecciones de suero de conejo. Sin embargo, hay diferencias antigénicas entre animales de la misma especie, incluyendo al hombre, como se demuestra por las tragedias asociadas con incompatibilidad de factor Rh, cuando una madre embarazada forma anticuerpos para los antígenos *extraños* de su propio hijo. Hay también pruebas de que alguna de las proteínas del organismo que de ordinario no están en contacto directo con la circulación, tal como la proteína del cristalino, son antigénicas cuando se extraen e inyectan al propio animal (Lewis, 1934).

Vía de inoculación. La importancia de la vía de inoculación en la determinación del grado y tipo de formación de anticuerpos ha sido recientemente demostrada por Treffers, Heidelberger y Freund (1947), quienes demostraron que la inyección intravenosa de globulina de conejo precipitada con alumbre producía buena cantidad de anticuerpos mientras que la inyección subcutánea del mismo material sólo daba lugar a la formación de anticuerpos de tipo bajo. La importancia de este trabajo se tratará después en este mismo capítulo.

Antígenos de importancia para el hombre. Las exotoxinas producidas por bacterias tales como los bacilos diftérico y tetánico durante el curso de la infección son altamente antigénicas; la formación por la persona infectada de antitoxinas neutralizantes es el factor más importante del restablecimiento sin tratamiento específico. Afortunadamente, el poder antigénico de la mayor parte de exotoxinas es tal que se pueden obtener antitoxinas de alta potencia por inmunización artificial de los animales; estas antitoxinas inyectadas a los pacientes confieren una inmunidad pasiva, temporal, pero eficaz, que con frecuencia permite al paciente sobrevivir a una infección que de otra forma habría sido mortal.

Los venenos de serpientes y arañas tienen también alto poder antigénico, y se puede obtener una protección pasiva contra la acción de las ponzoñas por inyección de antitoxinas preparadas en animales, siempre que la antitoxina sea administrada precozmente, y la difusión de los venenos se dificulte por medios mecánicos, como la aplicación de un torniquete, hasta que sea administrada la antitoxina.

Las endotoxinas son antigénicas en el sentido de que estimulan la producción de anticuerpos por inyección en animales, pero tales anticuerpos se producen en respuesta a los antígenos individuales que forman parte de la endotoxina y no tienen la propiedad de neutralizar en grado significativo los efectos tóxicos de la endotoxina. El interés en la estructura química y antigénica de las endotoxinas bacterianas ha sido revivido por los extensos estudios de Boivin y Mesrobeanu (1935) quienes han aislado, por extracción con ácido tricloroacético de algunas bacterias gramnegativas, substancias glucolipoides antigénicas. Estas substancias no proteínicas, frecuentemente calificadas de *antígenos de Boivin*, se describen como específicas, antigénicas y tóxicas, pero son muy inestables y pierden todas estas propiedades por hidrólisis. La debilidad relativa de los poderes tóxico y antigénico de estos complejos glucolipoides se pueden deducir de uno de sus protocolos que describe el efecto de la inmunización pasiva con antitoxinas preparadas contra las endotoxinas aisladas de una cepa de paratífico B (Boivin y Mesrobeanu, 1937). Esta antitoxina salvó a los tres animales inoculados con 0,1 mg de endotoxina, dosis que mató a dos de tres animales no protegidos. La antitoxina, sin embargo, no protegió contra dosis de 1 mg de endotoxina.

Muchas de las bacterias patógenas para el hombre son buenos antígenos; los pacientes con infección bacteriana frecuentemente desarrollan cantidades considerables de anticuerpos, que se pueden descubrir en sus sueros. Muchos de los antígenos bacterianos son inofensivos; los anticuerpos formados en respuesta a su presencia en el organismo reaccionan simplemente a la proteína u otros constituyentes antigénicos del cuerpo de la bacteria. En las pruebas usuales para descubrir anticuerpos en los sueros de pacientes, efectuadas con suspensiones de los organismos completos, solamente tienen oportunidad de reaccionar con los anticuerpos los antígenos de superficie de la bacteria. Debe subrayarse que los antígenos bacterianos son sumamente complejos y que una sola bacteria puede contener muchos constituyentes antigénicos diferentes. La importancia de estos antígenos múltiples y sus efectos sobre la especificidad de los sueros preparados por inyección de las bacterias completas serán estudiados después.

Los virus en general son excelentes antígenos, en contraste con los hongos que causan infecciones generales crónicas, pero son relativamente débiles para estimular la producción de anticuerpos.

Algunas substancias no bacterianas, como el suéro de caballo, son altamente antigénicas y tienen gran importancia en Medicina, porque la mayor parte de antitoxinas terapéuticas están contenidas en suero de caballo. Una persona que haya

recibido una inyección de suero antitóxico de caballo puede reaccionar intensamente a una inyección de suero terapéutico de caballo por haber producido anticuerpos para las proteínas normales contenidas en el suero extraño.

Otros antígenos. Los antígenos heterófilos o de Forssman son de interés considerable para los inmunólogos cuando se estudian las reacciones serológicas a los diversos órganos y tejidos del cuerpo. En resumen, Forssman (1911) demostró que emulsiones salinas de ciertos órganos del cobayo, como hígado, riñones, cápsulas suprarrenales, testículos y cerebelo, inyectadas a conejos, producen anticuerpos que hemolizan los glóbulos rojos normales de carnero. No se producen hemolisinas anticarnero por la inyección de sangre de cobayo. Desde entonces el problema ha sido estudiado por numerosos investigadores y los resultados han sido revisados por Forssman (1930). Si bien algunas bacterias, como los neumococos, contienen antígenos heterófilos, no es probable que estos antígenos tengan importancia en las infecciones bacterianas. Es interesante, sin embargo, que los anticuerpos anticarnero aparezcan en la sangre de pacientes con linfoblastosis aguda benigna (mononucleosis infecciosa); generalmente se recurre a la determinación de estos anticuerpos para confirmar el diagnóstico.

ANTICUERPOS

Los anticuerpos encontrados en los sueros de los animales que han recibido antígenos son proteínas asociadas únicamente con las fracciones globulínicas de los sueros. Aunque las globulinas se han subdividido en varios grupos por tratamiento salino, ultracentrifugación y electroforesis, no hay relación precisa entre las diversas fracciones obtenidas por los diferentes métodos. Además, los análisis de estas diversas fracciones para determinar su contenido en anticuerpos han demostrado que éstos no se encuentran exclusivamente en un subgrupo específico de globulina, sino en varios de ellos. Sin embargo, en todo suero hay tendencia a que el núcleo del anticuerpo esté asociado con una u otra de las fracciones. Algunos de los factores importantes en la determinación del tipo de globulina formadora del anticuerpo específico son: 1) tipo de antígeno; 2) animal que produce anticuerpo; 3) vía de inyección.

En la figura 25 se reproduce la imagen electroforética del suero concentrado de un conejo que había sido inmunizado contra neumococo de tipo I. Después de separar el anticuerpo por precipitación con cantidades óptimas de polisacárido puro de neumococos de tipo I (fig 25), se ve que prácticamente todo el anticuerpo se hallaba en la fracción gamma. En sueros de caballo, especialmente en las antitoxinas, se ha descrito un componente electroforético "T". A este respecto es interesante notar que las antitoxinas suelen obtenerse por inoculación subcutánea de antígeno, mientras que los conejos generalmente se inmunizan por inyección intravenosa. Treffers, Heidelberger y Freund (1947) han estudiado el problema y han observado que tanto la imagen electroforética en los sueros de caballo como los tipos de reacciones antígeno-anticuerpo obtenidas con estos sueros de caballo dependen de la vía de inoculación del antígeno.

Aparte de su capacidad para reaccionar con los antígenos específicos, las globulinas anticuerpos no presentan diferencias químicas apreciables con las globulinas normales, excepto por los cambios en el peso molecular de los anticuerpos producidos por algunas especies animales. Los anticuerpos antineumocócicos formados en el conejo y en el hombre tienen pesos moleculares alrededor de 160 000,

aproximadamente igual que las globulinas normales de estas especies, mientras que los anticuerpos antineumocócicos en el caballo tienen pesos moleculares de cerca de 990 000 (Kabat, 1939). Sin embargo, las antitoxinas formadas en el caballo tienen pesos moleculares que no difieren del de las globulinas normales (Pappenheimer, Lundgren y Williams, 1940).

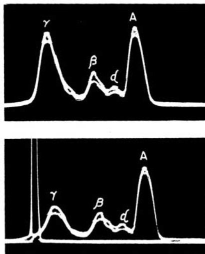


Fig. 25. Curva electroforética de un antisuero.

Parte superior: curva electroforética de un suero purificado de conejo antineumococo tipo I. Parte inferior: curva electroforética del mismo suero después de separar los anticuerpos por precipitación con polisacárido de neumococo tipo I.

Se ha trabajado mucho en química de los anticuerpos. Constantemente está apareciendo en la literatura nueva información y el conocimiento de la química de las proteínas aumenta; es de esperar, pues, que se encontrarán soluciones para muchos de los complejos problemas que plantea la inmunoquímica. Para información detallada acerca de la estructura química de los anticuerpos, consultar el libro de Boyd (1947). Por el momento, y para quienes se interesen primordialmente en el tratamiento y prevención de las enfermedades infecciosas, indiquemos que los anticuerpos se consideran como *inmunoglobulinas,* pero es importante no considerarlas entidades químicas distintas, sino más bien conglomerados de globulinas estrechamente relacionadas que reaccionan específicamente. Sin embargo, en la discusión subsiguiente de las reacciones antígeno-anticuerpo será necesario, para mayor claridad, considerar los anticuerpos como si fueran moléculas globulínicas aisladas de alto peso molecular.

Mecanismo de la formación de anticuerpos. Los mecanismos por los cuales el cuerpo animal forma anticuerpos específicos son desconocidos. Los dos hechos que toda teoría debe explicar son: 1) grado extraordinario de especificidad de los anticuerpos; 2) cantidad muy grande de anticuerpos específicos producidos por la introducción de cantidades relativamente pequeñas de antígeno.

Para explicar el grado extraordinariamente elevado de especificidad de los anticuerpos, Buchner (1889) y otros autores propusieron una teoría según la cual los anticuerpos contenían algunos constituyentes del antígeno. Sin embargo, se ha demostrado que resulta insostenible por la tremenda desproporción que existe entre la cantidad de antígeno inyectado y la de anticuerpos formados por el animal. Hooker y Boyd (1931) han calculado que la cantidad de anticuerpo globulínico suficiente para aglutinar 600 bacterias se puede producir por inyección de una sola molécula de antígeno; y que el número teórico de moléculas de globulina requerido para sensibilizar este número de bacterias es de unos 25 000 000. Estos autores excluyen también la posibilidad de que los antígenos sean partes esenciales de la molécula del anticuerpo por esta experiencia: introducen arsénico en un antígeno sintético, y comprueban que es imposible descubrir este elemento en los anticuerpos producidos.

La teoría de las *cadenas laterales* de Ehrlich (1904) actualmente sólo tiene interés histórico, pero representa un intento ingenioso para explicar la formación de grandes cantidades de anticuerpos después de la inyección de muy poco antígeno. En resumen, Ehrlich imaginó la célula normal de los tejidos como un grupo atómico central o *Leistungs Kern* provisto de cadenas laterales o *receptores* que actúan como puntos de contacto fisiológico entre la célula y el líquido circulante. Estas cadenas laterales, en condiciones normales, se suponía que desempeñaban importante papel en la nutrición de la célula por entrar en combinación con las substancias nutritivas solubles en el líquido que las rodea y aportadas por la sangre. Se suponía que al ponerse en contacto con material anormal o extraño, estas cadenas o receptores se combinaban con las substancias, pero resultaban inútiles para la célula por su falta de valor nutritivo. Entonces, estos receptores anormales se desprendían, y la célula, en su esfuerzo para reparar el daño, era estimulada para formar otras cadenas laterales del mismo tipo que el receptor alterado por el antígeno. Finalmente, la sobreproducción de estas cadenas laterales moleculares originaba la aparición en la corriente sanguínea de un exceso de receptores de reacción específica o anticuerpos.

Breinl y Haurowitz (1930), Alexander (1932) y Mudd (1932), trabajando independientemente, han sugerido una hipótesis plausible basada en suponer que los anticuerpos obtienen su especificidad como resultado de síntesis mientras están en contacto directo con el antígeno. Según esta teoría, los anticuerpos son globulinas de nueva formación fabricadas por las células del organismo bajo la influencia del antígeno, actuando éste como una especie de *plantilla* alrededor de la cual se forma la globulina nuevamente sintetizada. Se supone que entonces se disocia la combinación antígeno-anticuerpo, desprendiéndose el anticuerpo de la célula y el antígeno queda libre para actuar como molde alrededor del cual se puede sintetizar más globulina.

Herdegen, Halbert, y Mudd (1947), con un experimento ingenioso empleando vacuna de bacilo disentérico emulsionado en aceite, han demostrado que las substancias antigénicas se pueden recuperar de la zona de inyección hasta 18 a 24 semanas después de la inoculación. La disminución de anticuerpos en los ratones inoculados ocurre paralelamente con la destrucción gradual del antígeno en el sitio

inoculado. Libby y Madison (1947) y Salley y Libby (1947), usando como antígeno virus purificado del mosaico del tabaco *marcado* con fósforo radiactivo, han estudiado la localización del antígeno en los tejidos de ratones inmunizados y han relacionado su velocidad de desaparición del cuerpo con la producción de anticuerpos. Sus datos demuestran que la destrucción del antígeno coincide con la disminución en la cantidad de anticuerpos circulantes, hecho que los autores interpretan como prueba de que el antígeno debe de estar presente para estimular la formación de anticuerpos. La teoría de Pauling (1940) también requiere que el antígeno esté presente durante la síntesis del anticuerpo.

Burnet (1941) ofrece una explicación más dinámica de la formación de anticuerpos, basada en los datos obtenidos determinando las velocidades de formación de anticuerpos con diversos antígenos después de la primera y la segunda inyección de antígeno. Burnet tiene la impresión de que la elevación logarítmica del título de anticuerpos es demasiado rápida para ser explicada por la teoría de la *plantilla*. Algunos de estos datos serán objeto de comentario ulterior en este mismo capítulo. Burnet cree que los anticuerpos son sintetizados en las células por unidades de proteinasa *modificadas permanentemente* por su primer contacto con el antígeno extraño; esta modificación ocurriría simultáneamente con la destrucción del antígeno. Los anticuerpos se conciben formados de globulinas modificadas por enzimas que han sido *adaptadas* al proceso de manera similar a la producción de enzimas adaptativas por las bacterias. Tal teoría explica más fácilmente la enorme cantidad de anticuerpos que pueden formarse en respuesta a cantidades relativamente pequeñas de antígeno; también constituye una explicación más lógica del rápido e inmediato aumento en la producción de anticuerpos consecutiva a la segunda inoculación.

La teoría de Burnet nos parece una explicación de la producción de anticuerpos más plausible que cualquiera de las otras que se han propuesto. No es imposible que una célula posea enzimas suficientemente lábiles para ser alteradas después del simple contacto con un antígeno extraño y estimuladas a participar activamente en la formación y adaptación de las moléculas globulínicas que reaccionan específicamente. Tan notable adaptabilidad de las células vivas se ilustra bellamente por los experimentos de Griffith (1928), quien inyectó por vía intraperitoneal neumococos de tipo I, vivos, pero no capsulados (y por tanto avirulentos), en ratones, junto con neumococos de tipo II, virulentos, pero muertos por el calor. Los cultivos a partir de los ratones fueron positivos para neumococos vivos virulentos del último tipo. En resumen, las enzimas del neumococo avirulento, después de entrar en contacto en el cuerpo animal con un polisacárido extraño, pudieron reproducir el nuevo polisacárido y continuar elaborándolo en los subcultivos para producir cantidades teóricamente ilimitadas.

Lugar de formación de los anticuerpos. El lugar de formación de los anticuerpos es desconocido, pese a los numerosos experimentos ideados para resolver el problema. Se ha estudiado la producción de anticuerpos en animales esplenectomizados y en animales cuyo sistema reticuloendotelial se suponía bloqueado por inyecciones de tinta china y colorantes. Otros investigadores han dado dosis inmunizantes de antígeno comparando el contenido en anticuerpos de varios ganglios linfáticos y otros órganos con los títulos de anticuerpos en sangre. También se han hecho intentos para formación de anticuerpos en cultivos de tejidos. Ninguno de los experimentos ha demostrado de manera concluyente que se pueda considerar a un órgano o sistema determinados como productores específicos de anticuerpos.

La mayor parte de los inmunólogos, sin embargo, creen que la producción de anticuerpos es probablemente una función del sistema reticuloendotelial, ampliamente

distribuído. Tales conclusiones resultan de observaciones sobre los mecanismos por virtud de los cuales las células del organismo separan de la circulación las substancias extrañas, como colorantes y otras partículas. Después de la inyección intravenosa de tales materiales extraños, se comprueba que el hígado, el bazo y la medula ósea son los órganos más activos en separarlos de la circulación, aunque también se pueden encontrar en los pulmones y en las cápsulas suprarrenales. En estos órganos las partículas se encuentran en el revestimiento endotelial de los senos y capilares. Las inyecciones subcutáneas del material demuestran no solamente que los ganglios linfáticos adyacentes tienen poderosa acción filtrante, sino también que los histiocitos fijos de los tejidos son muy activos al respecto. Por lo tanto, no es imposible que estos colectores eficientes de los materiales extraños ejerzan las mismas funciones cuando penetran en el cuerpo antígenos extraños y que formen los anticuerpos por acción enzimática, como se ha señalado anteriormente.

Hay pruebas de que el antígeno que produce la hipersensibilidad bacteriana es diferente del relacionado con las reacciones de inmunidad y que tales anticuerpos probablemente tienen origen en células diferentes. Este punto será tratado con mayor amplitud en el capítulo sobre hipersensibilidad bacteriana.

Amplitud y velocidad de producción de anticuerpos. La cantidad de anticuerpos producidos por un animal depende no sólo del animal inyectado, sino de otros factores, como dosis de antígeno, vía de inoculación e intervalo entre las inyecciones. Es necesaria cierta dosis mínima de antígeno para inducir a la formación de anticuerpos en cantidad que permita su descubrimiento en el suero de un animal. Topley (1933), por ejemplo, comprobó que una inyección única de 10 000 organismos *(S. schottmülleri)* por kilogramo de peso corporal produjo en cuatro conejos una cantidad inapreciable de anticuerpos. La inyección de 100 000 bacilos por kilogramo en seis conejos dió por resultado un título máximo promedio de 1:330 (el título se expresa como la mayor dilución de suero que causará una reacción visible; en este caso, aglutinación). El título máximo promedio después de inyectar 10 000 000 de microbios por kilogramo fué de 1:1 860; después de 100 000 000 de 1:3 540. Sin embargo, son limitados los títulos que se pueden alcanzar por inyecciones únicas debido a que los diversos animales no pueden tolerar dosis crecientes ilimitadas de ciertos antígenos.

Por el empleo de un antígeno bacteriano *(Shigella paradysenteriae)* suspendido en aceite, que permitió una absorción muy lenta del antígeno, Herdegen, Halbert y Mudd (1947) encontraron que dosis tan pequeñas como 0,002 μg eran antigénicas en ratones. Después de la inyección del antígeno transcurre cierto tiempo antes que los anticuerpos aparezcan en la sangre, siendo variable la duración de este período estacionario debido a factores tales como dosis, vía de administración, etc. Más importante es, sin embargo, la experiencia previa del animal con el antígeno particular; el período estacionario resulta grandemente reducido en un animal cuyas células productoras de anticuerpos están *entrenadas* por el contacto previo con el antígeno.

Después de la *primera inyección*, única de una dosis suficiente de antígeno no se pueden descubrir anticuerpos por lo menos durante varios días; trancurridos éstos hay una elevación en el título, que suele alcanzar el máximo a finales de la segunda semana, si bien pueden alcanzarlo a los diez días o al final de la tercera semana después de la inoculación. El máximo suele ir seguido de una rápida disminución en la cantidad de anticuerpos circulantes por un período de varias semanas, luego por una caída más lenta del título, que poco a poco se aproxima a cero en unos meses.

Después de la *segunda inyección* de antígeno se obtiene una elevación mucho más rápida del título de anticuerpos y la cantidad de anticuerpos circulantes se mantiene a un nivel elevado por más tiempo que después de la primera inyección. La figura 26, tomada de las curvas de Burnet (1941), muestra las diferencias manifiestas que existen entre las respuestas primaria y secundaria.

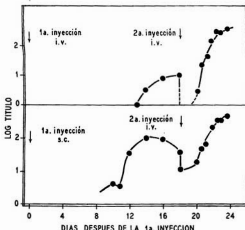


Fig. 26. Producción de antitoxina por la primera y la segunda inyección de toxoide estafilocócico.

Parte superior: primera inyección dada intravenosamente. Parte inferior: primera inyección dada subcutáneamente. (Tomada de Burnet, *Production of Antibodies,* Mcmillan Co. Ltd., Londres, 1941.)

La caída repentina, pero temporal, del título de anticuerpos después de la segunda inyección se conoce comúnmente como *fase negativa;* algunos investigadores han interpretado este fenómeno como indicación de que el animal está menos inmunizado durante este período. Sin embargo, tal caída en el contenido de anticuerpos no debe sorprender porque parte de la globulina inmune habrá de entrar en combinación con el antígeno recién introducido y los títulos de anticuerpos resultantes habrán de quedar reducidos, puesto que sólo los anticuerpos no combinados podrán reaccionar con el antígeno en la prueba *in vitro.* La interpretación adecuada de la fase negativa es interesante en la práctica, puesto que algunos médicos han dudado en inyectar vacuna antitífica a una persona expuesta a la fiebre tifoidea basándose en que tal individuo temporalmente resultaría más sensible a la infección. Sin embargo, se ha demostrado en la fiebre tifoidea que las inyecciones de vacuna durante el período de incubación no aumentan la susceptibilidad de una persona para la infección.

La producción rápida y eficiente de anticuerpos consecutiva a la segunda inyección con frecuencia se ha denominado *reacción anamnéstica;* las inyecciones de vacunas o toxoides con intervalos diversos después de la primera inmunización se mencionan en el lenguaje médico corriente como *inyecciones reactivadoras.*

Para mayor claridad al tratar el tema de la respuesta de anticuerpos a las inyecciones secundarias, fué necesario, para describir las elevaciones sorprendentes en el título, considerar solamente aquellos casos en los cuales las inyecciones secundarias se dieron mucho después de la inoculación inicial, en un momento en que el título de anticuerpos había caído a un nivel tan bajo que toda elevación se podía medir fácilmente. En realidad, se pueden obtener todos los grados de respuesta secundaria, según los intervalos de tiempo transcurridos entre las inyecciones. Así, se puede obtener un grado más satisfactorio de respuesta en anticuerpos por varias inyecciones de pequeñas dosis, espaciadas a intervalos adecuados, que por inyección única de una dosis mayor. El método de las dosis divididas tiene también la ventaja de evitar las reacciones tóxicas que se pueden presentar en algunos pacientes. Aunque en general se puede obtener mayor inmunidad con el método de las dosis divididas, en los programas de inmunización para grandes grupos de población, muchos individuos no recibirán la serie completa de inyecciones.

Cualquier método que disminuya la velocidad de absorción de un antígeno favorece la producción de una mejor respuesta en anticuerpos por el mismo principio que el de las dosis divididas o reactivadoras. Así, una dosis única de toxoide precipitado con alumbre, por su mayor lentitud de absorción, es suficiente para modificar la reacción de Schick en un tanto por ciento determinado de niños susceptibles a la difteria, pero varias inyecciones de toxoide líquido producirán un número mucho mayor de inversiones de la reacción de Schick.

Desaparición de los anticuerpos. En un animal inmunizado activamente con una dosis adecuada de un buen antígeno, se pueden encontrar anticuerpos en el suero por muchos meses, si bien el título disminuye lentamente.

La caída en el título de anticuerpos es más rápida en un animal inmunizado pasivamente, que ha recibido anticuerpos de un animal de la misma especie, que en el inmunizado activamente. Mason, Dalling y Gordon (1930) determinaron las variaciones del título de anticuerpos en el suero sanguíneo de carneros que había recibido la antitoxina en los dos primeros días de vida con el calostro de las madres inmunizadas (fig. 27). Los títulos de anticuerpos disminuyeron casi logarítmicamente, requiriéndose para una reducción al décimo unos dos meses. Algo similar ocurre en el hombre; los niños recién nacidos reciben a través de la placenta anticuerpos homólogos de los existentes en la sangre de la madre, en el supuesto de que ésta posea inmunidad; es regla general que el niño se beneficie de esta inmunidad pasiva por un período de tres a seis meses.

El título de anticuerpos disminuye con mucha mayor rapidez en los animales que han adquirido los anticuerpos de un animal de especie diferente. Glenny y Hopkins (1922) titularon la antitoxina diftérica en conejos que habían recibido inyecciones intravenosas de antitoxina preparada en caballo, y observaron que los anticuerpos prácticamente habían desaparecido al noveno o décimo día de la inyección (fig. 27). Aunque la caída del título se debía en parte a la absorción de la antitoxina de la sangre por las células tisulares, el factor más importante en la disminución tan rápida era la naturaleza extraña de la antitoxina. Como la antitoxina estaba contenida en suero de caballo, proteína extraña al conejo y, por tanto, antigénica en este animal, los conejos respondían rápidamente con la formación de anticuerpos para el suero extraño. Los autores demostraron que en conejos que habían reci-

bido previamente inyecciones de suero de caballo, la inoculación de antitoxina de caballo iba seguida de desaparición completa de la antitoxina en plazo de cuatro días (fig. 27).

Tipos de anticuerpos. En el campo general de las enfermedades infecciosas se trabaja con diversos tipos de anticuerpos, que suelen clasificarse según la naturaleza del correspondiente antígeno.

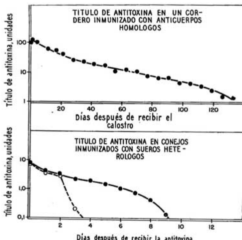


Fig. 27. Disminución del título de anticuerpos en animales inmunizados pasivamente.

Parte superior: título de antitoxina en un carnero inmunizado pasivamente por el calostro. (Según Mason, Dalling y Gordon, *J. Path. & Bact.*, 1930, 33:783.) Parte inferior: título de antitoxina en conejos inmunizados pasivamente por la antitoxina de otra especie (caballo). La línea más negra: promedio de títulos de tres conejos normales. La línea de trazos: promedio de títulos de siete conejos previamente inyectados con suero de caballo. (Sacado de los datos de Glenny y Hopkins, *J. Hygiene*, 1922, 21:142.)

Las antitoxinas son anticuerpos formados como resultado de estimulación por exotoxinas bacterianas y toxoides, ponzoñas de serpientes, etc.; tienen la función primordial de neutralizar los efectos tóxicos de las exotoxinas. Estos anticuerpos no actúan contra las bacterias productoras de la toxina, ya que son producidos en respuesta a las inyecciones de productos metabólicos tóxicos que no contienen antígenos inherentes al cuerpo bacteriano.

Los anticuerpos antibacterianos son los formados durante el curso de una infección bacteriana, o por inyección de vacunas o productos bacterianos. Estos anticuerpos con frecuencia se denominan *sensibilizantes* porque aumentan la sensibilidad

de la bacteria específica a la aglutinación, la fagocitosis y otros efectos que se describirán.

Los anticuerpos para proteínas extrañas innocuas, que a veces causan reacciones intensas, son los llamados *anticuerpos anafilácticos*, *reaginas*, etc. Estos anticuerpos y los causantes del tipo bacteriano de hipersensibilidad serán tratados más tarde.

BIBLIOGRAFIA

Alexander, J. *Protoplasma*, 1932, 14:296.
Avery, O. T., and Goebel, W. F. *J. Exper. M.*, 1933, 58:731.
Boivin, A., and Mesrobeanu, L. *Rev. d'Immunol.*, 1935, 1:553; *Compt. rend. Soc. de biol.*, 1937, 124:1092.
Boyd, W. C. *Fundamentals of Immunology*, Interscience Publishers, Inc., New York, 1947.
Breinl, F., and Haurowitz, F. *Z. physiol. Chem.*, 1930, 192:45.
Buchner, H. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt., 1889, 6:561.
Burnet, F. M. *Production of Antibodies*, Macmillan & Co., Ltd., London, 1941.
Ehrlich, P. *Gesammelten Arbeiten*. 1904; Hirschwald, Berlin.
Forssman, J. *Ztschr. f. Biochem.*, 1911, 37:78.
——— *Handb. d. path. Mikroorg.*, ed. by Kolle and Wassermann, 3rd ed., 1930, 469.
Francis, T., Jr. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1934, 31:493.
Glenny, A. T., and Hopkins, B. E. *J. Hyg.*, 1922, 21:142.
Griffith, F. *J. Hyg.*, 1928, 27:113.
Herdegen, M., Halbert, S. P., and Mudd, S. *J. Immunol.*, 1947, 56:357.
Hooker, S. B., and Boyd, W. C. *J. Immunol.*, 1931, 21:113.
Horsfall, F. L., and Goodner, K. *J. Immunol.*, 1936, 31:135.
Kabat, E. A. *J. Exper. M.*, 1939, 69:103.
Landsteiner, K. *The Specificity of Serological Reactions*, Charles C. Thomas Co., Springfield, Ill., 1946.
——— and van der Scheer, J. *J. Exper. M.*, 1929, 50:407.
——— and Levine, P. *J. Immunol.*, 1932, 22:75.
Lewis, J. H. *J. Infect. Dis.*, 1934, 55:168.
Libby, R. L., and Madison, C. R. *J. Immunol.*, 1947, 55:15.
Mason, J. H., Dalling, T. A., and Gordon, W. C. *J. Path. & Bacteriol.*, 1930, 33:783.
Mudd, S. *J. Immunol.*, 1932, 23:423.
Pappenheimer, A. M., Lundgren, H. P., and Williams, J. W. *J. Exper. M.*, 1940, 71:247.
Pauling, L. *J. Am. Chem. Soc.*, 1940, 62:2643.
Salley, D. J., and Libby, R. L. *J. Immunol.*, 1947, 55:27.
Topley, W. W. C. *An Outline of Immunity*, Wm. Wood & Co., Baltimore, 1933.
Treffers, H. P., Heidelberger, M., and Freund, J. *J. Exper. M.*, 1947, 86:83, 95.
Uhlenhuth, P. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1905, 31:564.

CAPITULO XIV

TOXINAS Y ANTITOXINAS

El estudio de toxinas y antitoxinas precede al de los anticuerpos bacterianos por la relación cuantitativa precisa entre la cantidad de antitoxina específica que posee un animal y su capacidad para resistir los efectos dañinos de la toxina. Como las toxinas son substancias inanimadas, se pueden obtener datos experimentales ciertos acerca de su toxicidad, modo de acción, neutralización por la antitoxina y otras propiedades.

Es costumbre clasificar las toxinas bacterianas en dos tipos generales: las exotoxinas que, por definición, son excretadas en el medio en que los organismos se están desarrollando; y las endotoxinas, liberadas solamente después de la desintegración de los organismos. Se han utilizado como criterio para diferenciar las exotoxinas de las endotoxinas otras propiedades, como poder antigénico, grado de toxicidad, efectos de la toxina sobre tejidos animales específicos y susceptibilidad al calor. En los ejemplos clásicos de ambos tipos, como *exotoxina* de *Corynebacterium diphtheriae* y *endotoxina* de *Shigella paradysenteriae*, estas diferencias de acción fisiológica son netas, pero hay muchos casos en los cuales no se pueden establecer distinciones tan precisas. Así, Smolens y Flavell (1947), usando un oscilador sónico, aislaron una toxina de *Hemophilus pertussis* que tenía todas las características fisiológicas de una exotoxina, pero que fué clasificada como endotoxina por haberse extraído de los cuerpos bacilares. La producción de toxina diftérica potente en un medio desprovisto de proteínas (Mueller y Miller, 1941) subraya el hecho de que las exotoxinas son productos sintetizados dentro de la célula bacteriana, pero que, en condiciones favorables de laboratorio, se difunden al medio que las rodea.

En la tabla adjunta se registran los criterios comúnmente empleados para diferenciar las exotoxinas de las endotoxinas, pero hay otros muchos productos tóxicos del metabolismo bacteriano que habrán de ocupar posiciones intermedias.

Exotoxinas	Endotoxinas
1. Se encuentran de manera característica en el medio líquido en que cultivan las bacterias. Aunque las toxinas probablemente se forman dentro de la célula, son excretadas con rapidez, encontrándose las concentraciones máximas en los cultivos de cinco a siete días.	1. Están estrechamente ligadas a la célula bacteriana; los productos tóxicos sólo son liberados en el cuerpo del animal después de la destrucción de la célula por rotura mecánica o por autólisis de los organismos viejos.
2. Son altamente tóxicas; los animales pequeños de laboratorio mueren si se les inyecta 0,001 c.c. o menos.	2. Son poco tóxicas; la dosis mortal para los animales de laboratorio es de 0,5 a 1,0 c.c. o más.
3. Producen efectos tóxicos altamente específicos para ciertos tejidos, como músculo cardíaco, nervios, cápsulas suprarrenales, etc. Tales efectos suelen ser suficientemente característicos para identificar la toxina.	3. Producen efectos tóxicos no específicos, como lesiones locales en el sitio de la inyección y reacciones generalizadas, como fiebre.
4. Son relativamente inestables; pierden rápidamente su toxicidad por la exposición a	4. Son relativamente estables; conservan su acción tóxica después del calentamiento a

Exotoxinas	Endotoxinas
temperaturas de 60° C. o superiores; se destruyen con rapidez por conservación a la temperatura ambiente, exposición a la luz ultravioleta, etc.	60° C. y permanecen inalteradas por conservación o exposición a la luz ultravioleta, etcétera.
5. Son altamente antigénicas; estimulan la producción de grandes cantidades de antitoxinas neutralizantes cuando se inyectan a los animales.	5. Son débilmente antigénicas; no forman antitoxinas específicas neutralizantes en cantidad apreciable en los animales inyectados.
6. Son convertidas en toxoides por tratamiento con formol. Tales toxoides conservan el poder antigénico, pero pierden la toxicidad.	6. No se convierten en toxoides por tratamiento con formol.

Se han obtenido toxinas antigénicas de origen animal (ponzoñas de diversas serpientes, arañas y escorpiones) y vegetal (ricina de la semilla del ricino y abrina de la semilla del regaliz de la India), así como de bacterias, tales *Corynebacterium diphtheriae*, *Clostridium tetani*, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus hemolyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysenteriae* y diversos miembros del género *Clostridium* relacionados con la gangrena gaseosa.

TOXINA Y ANTITOXINA DIFTERICAS

La diftérica fué la primera toxina bacteriana que se descubrió (Roux y Yersin, 1888); ha sido mejor entudiada que cualquiera otra. La reacción toxina-antitoxina diftérica se estudiará en detalle en este capítulo, porque las investigaciones acerca de esta reacción han contribuído grandemente a la comprensión de los principios básicos relacionados con el desarrollo de inmunidad para bacterias productoras de exotoxinas.

Toxina diftérica. Todos los medios biológicos utilizados por el médico en la profilaxis y terapéutica de la difteria dependen, en último análisis, de la producción en el laboratorio de una toxina diftérica potente. Las primeras toxinas diftéricas fueron filtrados estériles de cultivos en caldo, que contenían, además de la toxina, muchas impurezas de composición desconocida.

Los estudios de Mueller y sus colaboradores sobre requerimientos nutritivos de *C. diphtheriae* permitieron gran adelanto en la producción de toxina diftérica. Mueller (1940) logró finalmente cultivar bacilos diftéricos en un medio que no contenía substancias de peso molecular mayor que el de los aminoácidos. Según Pappenheimer (1942), desde 1937 el laboratorio de vacunas y antitoxinas de Massachusetts sólo ha empleado medios de composición química definida en la preparación de toxina para convertirla en el toxoide, de uso tan amplio en clínica.

Para obtener una buena toxina en un medio sintético debe vigilarse con cuidado extremo las proporciones de los diversos constituyentes. ya que la producción de toxina puede ser inhibida por la presencia de cantidades mínimas de impurezas. Así, por ejemplo, Pappenheimer y Johnson (1936) comprobaron que 0,5 mg de hierro por litro de medio de cultivo inhibía la producción de toxina y que la mejor se obtiene cuando el medio sólo contiene 0,04 mg de hierro por litro. Pappenheimer (1947) más tarde observó que la mayor producción de toxina se lograba cuando la concentración de hierro era nula.

La purificación de la toxina diftérica fué lograda por dos investigadores (Eaton, 1936; Pappenheimer, 1937), quienes, trabajando independientemente, lograron la obtención de preparados de toxina diftérica tan purificados que pudieron ser anali-

zados químicamente. Sus análisis demostraron que la toxina era una proteína que contenía 16 por ciento de nitrógeno. No había caracteres químicos demostrables que se pudieran utilizar para distinguir la toxina diftérica de la mayor parte de proteínas no tóxicas, fuese cual fuese su origen. Además, la toxina no contenía grupos prostéticos a los cuales atribuir la toxicidad. El peso molecular se estimó en 74 000 (Pappenheimer y col., 1940; Petermann y Pappenheimer, 1941a).

Para valorar los materiales biológicos usados en la lucha contra la difteria se han creado diferentes unidades de toxina diftérica, que todavía son de uso común. Excepto la D.L.M. (dosis letal mínima) todas las unidades de toxina se definen en correspondencia con unidades antitoxina; por lo tanto, se describirán después de tratar de la reacción toxina-antitoxina.

Antitoxina diftérica. Si bien la antitoxina se puede obtener de muchos animales por inyección de toxoides o dosis subletales de toxina, el caballo ha resultado ser el más adecuado para la producción en gran escala de antitoxina diftérica. Los caballos suelen inmunizarse por inyecciones subcutáneas de toxoide diftérico, aunque se puede usar toxina si la primera dosis va precedida de una inyección de antitoxina.

Hay una variación tan neta en la producción de antitoxina según los animales, que se practican sangrías de prueba con determinados intervalos para eliminar a los malos productores. La mayor parte de los caballos son capaces de producir 500 o más unidades de antitoxina por c.c. tres meses después de haber empezado la inmunización. Cuando el caballo ha alcanzado un título satisfactorio de antitoxina se le sangra por la vena yugular y se recogen de 7 a 10 litros de sangre. Se pueden extraer hasta 9 litros de sangre con intervalos de dos semanas sin perjudicar al animal. Se recoge la sangre en solución de citrato y, después de conservarlo en la nevera varios días, se somete el plasma al tratamiento adecuado.

Antes de distribuir la antitoxina para uso clínico, se concentra o refina por diversos métodos con objeto de disminuir las proteínas del suero de caballo que carecen de actividad antitóxica, pero son antigénicas, y por tanto, capaces de causar la enfermedad del suero. Las técnicas usadas para este fin varían según los laboratorios, pero, en general, son de dos tipos. El primero consiste en una serie de precipitaciones utilizando concentraciones diferentes de sulfato amónico. Las fracciones euglobulina y fibrinógeno se separan primero; entonces se añade una cantidad adicional de sal para precipitar la fracción seudoglobulina que contiene la antitoxina. Este último precipitado se trata por redisolución, diálisis y filtrado.

El segundo método, creado por Parfentjev (1936), consiste en digerir el plasma con solución de pepsina a pH 4,0-4,5. Así se prepara del 70 al 80 por ciento de la proteína coagulable por el calor, con una reducción aproximada del 20 por ciento en el contenido de antitoxina. El material digerido se precipita con sulfato amónico y después de diálisis y nuevo tratamiento queda listo para la distribución. La antitoxina preparada según este procedimiento raramente causa enfermedad del suero en el hombre por estar muy disminuída la cantidad de proteína del suero de caballo. Petermann y Pappenheimer (1946) consideran que la acción de la pepsina estriba en incidir la molécula en un plano en ángulo recto con el eje longitudinal. La molécula de antitoxina, al parecer, se divide en una porción activa resistente a la acción deletérea del calor y una porción inactiva que el calor desnaturaliza rápidamente (Pope, 1939).

Unidad de antitoxina diftérica. Von Behring en 1893 intentó valorar la toxina diftérica en términos de poder para proteger a los cobayos contra la acción mortal de la toxina diftérica. Según él, *antitoxina normal* era un suero capaz de neutralizar

una *solución tóxica normal* que contuviera 100 dosis mortales mínimas para el cobayo.

Como la toxina diftérica es relativamente inestable y pierde su toxicidad por el simple almacenamiento, fué necesario establecer un punto de referencia constante para titular la toxina y la antitoxina. Ehrlich logró conservar indefinidamente una antitoxina por desecación del suero *in vacuo* y mantenimiento a baja temperatura en presencia de ácido fosfórico anhidro. Se enviaron muestras de esta antitoxina a instituciones de diversos países, donde se conservan.

La unidad tipo oficial de antitoxina en Estados Unidos es la cantidad de antitoxina contenida en 1/6 000 de gramo de un suero antitóxico de caballo conservado desde 1905 en el Instituto Nacional de Higiene en Bethesda, Maryland. Esta unidad americana es igual que la unidad internacional de antitoxina diftérica. Refiriéndose a unidades protectoras, la unidad tipo de antitoxina contiene antitoxina suficiente para neutralizar 100 D.L.M. de la toxina que había preparado Ehrlich y había empleado para titular su antitoxina tipo.

La antitoxina diftérica, como muchos otros productos biológicos, se produce y distribuye por compañías comerciales con autorización gubernamental. En Estados Unidos el Instituto Nacional de Higiene define explícitamente los requerimientos mínimos en cuanto a potencia y métodos que deben usarse en la comprobación de los productos. Estas especificaciones se indicarán en este mismo capítulo.

La reacción toxina-antitoxina diftérica. Poco tiempo después del descubrimiento de la antitoxina diftérica se comprobó que eran netamente diferentes los valores protectores de los diferentes sueros, aunque hubieran sido preparados de la misma manera. Von Behring intentó valorar las antitoxinas tetánica y diftérica determinando las cantidades de suero inmune necesarias para proteger a cobayos de peso conocido contra dosis determinadas de toxinas tipo. Así, una "unidad de toxina" o D.L.M. de toxina diftérica era la cantidad de toxina necesaria para matar a un cobayo de 250 gramos de peso; la unidad antitóxica, la cantidad de suero que protege al cobayo contra 100 unidades de toxina.

Ehrlich mejoró la definición de dosis tipo de toxina especificando un tiempo límite dentro del cual debía ocurrir la muerte. *La dosis letal mínima,* como ha sido definida por Ehrlich, *es la menor cantidad de toxina que matará a un cobayo de 250 gramos de peso dentro de los cuatro días siguientes al de la inoculación subcutánea.*

La D.L.M. es una unidad muy importante, esencial para dos tipos de pruebas. La *prueba de Schick*, usada para descubrir la susceptibilidad de un individuo para la enfermedad, se practica con toxina diftérica diluída de modo que 0.1 c.c. de la solución contenga 1/50 de la D.L.M. La D.L.M. debe también conocerse en relación con el poder antigénico del toxoide diftérico comercial. El Instituto Nacional de Higiene de EE. UU. especifica que los toxoides usados para inmunización activa de los seres humanos deben tener suficiente poder antigénico para que el 80 por ciento de los cobayos inmunizados con una sola inyección vivan 10 días después de recibir una inyección única de 10 D.L.M. de toxina diftérica.

A causa de la inestabilidad de la toxina diftérica, el valor de la D. L. M. de un preparado determinado cambia gradualmente con el tiempo; debe, pues, seleccionarse la unidad de antitoxina más estable como punto de referencia para valorar y comparar los diferentes lotes de toxina.

El estudio más amplio de la reacción toxina-antitoxina fué hecho por Ehrlich, quien creó ciertas técnicas tipo, como la de mezclar toxina y antitoxina 15 a 30 minutos antes de la inyección a un cobayo de 250 gramos.

Por este método de ensayo Ehrlich creó dos nuevas unidades de toxina: 1) *la unidad L_0*, que se define como *la mayor cantidad de toxina que mezclada con una unidad de antitoxina e inyectada subcutáneamente a un cobayo* de 250 g de peso, no producirá reacción tóxica, y *la unidad L_+* que se describe como *la menor cantidad* de toxina que mezclada con una unidad de antitoxina e inyectada subcutáneamente a un cobayo de 250 g de peso, causará la muerte del animal dentro de los cuatro días.

El protocolo siguiente ilustra la diferencia entre estas dos unidades de toxina.

1 unidad de antitoxina	+ 0,15	c.c.	de toxina	=	no hay reacción.
" "	+ 0,16	"	"	=	reacción apenas visible en el punto de la inyección.
" "	+ 0,17	"	"	=	reacción local manifiesta.
" "	+ 0,18	"	"	=	parálisis tardía.
" "	+ 0,19	"	"	=	parálisis tardía.
" "	+ 0,20	"	"	=	muerte seis días después de la inyección.
" "	+ 0,21	"	"	=	muerte en cuatro días.

Según los datos anteriores, la dosis L_0 de la toxina estudiada será de 0,16 c.c. y la dosis L_+ de 0,21 c.c. La dosis L_+ es mucho más fácil de determinar exactamente que la dosis L_0, porque en esta última la estimación depende del observador, o de si la toxina es exactamente neutralizada o no lo es.

La dosis L_+ es la unidad de toxina de mayor importancia práctica, porque se puede emplear para valorar exactamente las antitoxinas diftéricas producidas por casas comerciales para uso terapéutico y profiláctico en clínica. La técnica puede resumirse como sigue: Se prepara toxina diftérica fresca; después de dejarla algún tiempo para *maduración* se determina su dosis L_+ mezclando cantidades variables de toxina con cantidades constantes de una antitoxina previamente valorada por comparación con la antitoxina oficial. Esta dosis L_+ de toxina se mezcla con cantidades variables de la antitoxina recién preparada y se inyectan a cobayos de 250 g. El contenido en antitoxina del suero se calcula determinando la mayor cantidad de suero que no logra proteger a los cobayos de la muerte dentro de los cuatro días que siguen a la inyección de la mezcla.

En 1909 Römer observó que la inyección intracutánea de una pequeña cantidad de toxina diftérica producía una inflamación eritematosa y que esta reacción podía ser neutralizada con antitoxina. La menor cantidad de toxina que producía una reacción clara fué definida como *dosis reaccional mínima* o D.R.M. En general, la D.R.M. de una toxina suele ser aproximadamente de 1/250 a 1/500 de la D.L.M.

La dosis L_r de toxina diftérica es análoga a la dosis L_+ antes descrita; representa la menor cantidad de toxina que, después de mezclada con una unidad de antitoxina, producirá una lesión cutánea mínima cuando se inyecta intracutáneamente a un cobayo. En la práctica, las pruebas suelen efectuarse con fracciones de unidad de antitoxina en lugar de la unidad completa, de modo que se emplean términos como $L_r/20$ o $L_r/500$. La dosis de $L_r/20$, por ejemplo, es la menor cantidad de toxina en una mezcla que contiene 1/20 de unidad de antitoxina que causa reacción mínima cuando se inyecta intracutáneamente. El título de antitoxina de sueros desconocidos se puede determinar también inyectando una serie de mezclas cada una de las cuales contiene una dosis constante de toxina y una cantidad variable de la antitoxina que se va a ensayar. Así, por ejemplo, la mayor cantidad de antitoxina que, mezclada con la dosis $L_r/20$ de toxina, no previene la aparición de una reacción cutánea se admite que contiene 1/20 de unidad de antitoxina.

También se ha usado el método intracutáneo en conejos; su tamaño permite utilizarlo para inyectar cierto número de mezclas. Este método no solamente es econó-

mico por el menor número de animales requerido, sino que también tiene una ventaja muy clara por cuanto se pueden probar el testigo y los sueros problema en el mismo animal, eliminando así las variaciones individuales. Por cada serie de pruebas se utiliza un mínimo de dos conejos; se inyecta un tercero si se obtienen resultados discordantes en el primer par de animales.

Ramon, en 1922, ideó un método de titulación *in vitro* de toxina y antitoxina diftéricas. La titulación se basa en observar el primer tubo que flocula en una serie que contiene cantidades constantes de toxina y cantidades variables de antitoxina. La unidad floculante, o unidad L_f, de toxina diftérica se define como *la cantidad de toxina que flocula más rápidamente con una unidad de antitoxina, en una serie de mezclas que contienen cantidades constantes de toxina y variables de antitoxina.*

Por la forma en que se establece la prueba, esto es, empleando cantidades variables de antitoxina, el valor de L_f debe calcularse. El siguiente protocolo, modificación del publicado por Bayne-Jones (1924), ilustra el método de titulación y el cálculo de la unidad L_f. El título del suero usado en esta prueba fué de 430 unidades de antitoxina por c.c.

VALORACIÓN DE LA TOXINA

TUBO Nº	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
TOXINA	2 c.c.	2 c.c.	2 c.c.	2 c.c.	2 c.c.	2 c.c.	2 c.c.	2 c.c.	2 c.c.	2 c.c.
ANTITOXINA	0,031 c.c.	0,032 c.c.	0,033 c.c.	0,034 c.c.	0,035 c.c.	0,036 c.c.	0,037 c.c.	0,038 c.c.	0,039 c.c.	0,040 c.c.
Tiempo 15 min.		N	N	N	N	N	N	N	N	N
30 „			P	P	P	P	P	P		
67 „					F					
80 „			F	F	F	F	F	F		

N = nuboso; P = precipitado granular; F = floculación.

El tubo Nº 5, que contiene 0,035 c.c. de suero o 15,05 unidades de antitoxina, es el que floculó más rápidamente. De estos datos cabe deducir que el valor de L_f de la toxina era 0,133 c.c. El título de antitoxina de un suero desconocido se puede determinar utilizando la misma técnica, pero empleando una toxina de L_f conocido.

La unidad L_f es una medida del poder de combinación de una toxina, más bien que de su toxicidad, ya que permanece virtualmente inalterado cuando la toxina es convertida en toxoide. Aunque los toxoides empleados para inmunización de los seres humanos se prueban para determinar su capacidad de estimular la inmunización activa en los animales, el poder antigénico del toxoide diftérico se puede estimar por determinación de su valor L_f. Al aplicar el método de floculación en la comprobación de los toxoides precipitados con alumbre, es necesario obtener una solución clara de antígeno disolviendo el precipitado en ácido cítrico o en citrato sódico.

En general, el valor de L_f es proporcional a la D. L. M. original de la toxina y se aproxima al valor de la dosis L_0 de la toxina recién preparada. El valor L_f no tiene relación con la dosis L_+. Cuando la toxina se deteriora con el tiempo, o si es tratada con formol, la D.L.M. y los valores L_0 y L_+ aumentan; el valor L_f permanece constante.

El valor L_f de un toxoide estabilizado es una unidad importante porque la prueba de floculación es el método más económico para determinar el contenido en antitoxina de un suero. Hay una buena correlación entre los títulos de antitoxina ob-

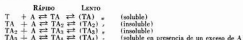
tenidos por las titulaciones en animales y los procedimientos de floculación, pero en algunos casos el último método da títulos más altos que el del cobayo. Como el médico se interesa primordialmente por la capacidad de un suero dado para proteger a su paciente, ningún método de titulación *in vitro* puede reemplazar a una prueba que se basa en la protección de los animales susceptibles. Por lo tanto, las pruebas más costosas, de protección animal, suelen reservarse para la titulación de las mezclas de sueros antitóxicos de varios caballos; previamente se determinó el contenido en antitoxina de cada suero titulándolo por el método de floculación.

Si bien la prueba de Ramon se basa en el principio de las proporciones óptimas de antígeno y anticuerpo, no debe confundirse con la relación óptima de Dean y Webb (1926) que se usa para titular las precipitinas. En el método de Dean-Webb la cantidad de anticuerpo se mantiene constante y el contenido de antígeno es variable; en la prueba de Ramon, el antígeno se conserva constante.

En 1902 Danysz observó que si se añadía toxina diftérica a la antitoxina en dos fracciones separadas y se dejaba un intervalo suficiente entre una y otra adición, la mezcla resultante era más tóxica que si hubiera añadido la misma cantidad total de toxina de una vez. Este fenómeno, conocido como *efecto Danysz*, fué interpretado por su descubridor como indicación de que la toxina se combina con la antitoxina en proporciones múltiples. Tal interpretación era también una explicación lógica del hecho observado de que la diferencia entre la dosis L_+ de toxina diftérica y la dosis L_0 no era una D.L.M., sino que resultaba mucho mayor; no son raras las diferencias de 20 D.L.M. Ehrlich, sin embargo, intentó explicar este fenómeno suponiendo la existencia de varias clases de toxoides, cada uno de los cuales poseería diferente grado de afinidad por la antitoxina; de aquí términos tales como epitoxoide, toxona y prototoxoide.

Pappenheimer y Robinson (1937) demostraron que a lo largo de toda la zona de floculación había proporcionalidad directa entre las unidades L_f de la toxina añadida a una cantidad constante de antitoxina y la cantidad total de nitrógeno contenido en los flóculos precipitados. En esta zona relativamente amplia de equivalencia, los líquidos residuales estaban libres de toxina y antitoxina y el aumento en el nitrógeno precipitado podía explicarse cuantitativamente por la cantidad de nitrógeno de la toxina añadida. Este experimento prueba en forma definitiva que la toxina y la antitoxina diftéricas se combinan en proporciones múltiples. No hay precipitación en la región de exceso de antitoxina. Este fenómeno de solubilidad en mezclas que contienen exceso de anticuerpo, que antiguamente se consideraba característico de la reacción toxina-antitoxina, puede depender de otros factores, como el tipo de animal que suministra el anticuerpo (Pappenheimer, 1940) o el método empleado en la inmunización activa del animal (Treffers, Heidelberger y Freund, 1947).

Las ecuaciones siguientes, tomadas de la revisión de Pappenheimer,* presentan el concepto moderno de la reacción toxina-antitoxina que se representa sucediendo por pasos: 1) una combinación rápida de toxina y antitoxina, y 2) una agregación más lenta de las moléculas.



	Rápido	Lento	
	$T + A \rightleftarrows TA$	$\rightleftarrows (TA)_w$	(soluble)
	$TA + A \rightleftarrows TA_2$	$\rightleftarrows (TA_2)_x$	(insoluble)
	$TA_2 + A \rightleftarrows TA_3$	$\rightleftarrows (TA_3)_y$	(insoluble)
	$TA_3 + A \rightleftarrows TA_4$	$\rightleftarrows (TA_4)_z$	(soluble en presencia de un exceso de A)

T representa la toxina; A representa la antitoxina; *w*, *x*, *y*, *z* representan el número promedio de moléculas en los diversos agregados.

* (Pappenheimer, A. M., *J. Bact.*, 1942, 43: 273.)

Debe recordarse que se puede formar toda clase de complejos intermedios con fórmulas tales como T_2A_3 y T_2A_5.

Requerimientos mínimos de los productos biológicos de difteria. El Instituto Nacional de Higiene de Estados Unidos mantiene estrecha vigilancia sobre los diversos productos biológicos manufacturados y vendidos por diferentes compañías y especifica en detalle los requerimientos mínimos para tales productos biológicos y las técnicas que deben emplearse para valorarlos.

Las siguientes especificaciones para la *antitoxina diftérica* han sido extractadas de la revisión del 2 de enero de 1946.

La potencia de la antitoxina se determina por el método de L+ antes descrito, usando una antitoxina tipo suministrada por el propio Instituto. Se puede usar cualquier toxina diftérica potente, siempre que después de envejecer y estabilizarse tenga un alto valor L+ (la dosis L+ debe estar contenida como máximo en 0,2 c.c. de toxina). Cuando se van a hacer las titulaciones, la toxina debe diluirse en solución salina fisiológica de modo que la dosis L+ esté contenida en 2,0 c.c. Se hacen las diversas diluciones de antitoxina; han de estar contenidas en un volumen de 1,0 c.c.; así, pues, el volumen total inyectado al cobayo es de 3,0 c.c. Las diversas mezclas de toxina y antitoxina se mantienen a la temperatura de la habitación (20-35° C.) durante una hora, antes de hacer la inyección. La mezcla se inyecta subcutáneamente; la aguja se introduce en toda su longitud, cruzando la línea blanca para evitar pérdidas. Deben utilizarse como testigos por lo menos cuatro cobayos; cada uno es inyectado con la mezcla de una dosis L+ y una unidad de antitoxina. Si todos los animales testigos no mueren en unas 96 horas, debe repetirse la prueba.

La antitoxina, en su envase final, debe satisfacer ciertos requerimientos en cuanto a inocuidad, esterilidad y ausencia de pirógenos. La *inocuidad* de la antitoxina se comprueba inyectando por vía subcutánea ratones de 20 gramos de peso con 0,5 c.c., o cobayos de 400 g con 5,0 c.c. del contenido del envase final. Se requieren dos o más animales para la prueba; ninguno debe morir, ni presentar síntomas anormales en un período mínimo de siete días. La *esterilidad* del material en el producto final se comprueba por subcultivos de toda la dosis recomendada o de 5 c.c., en un medio líquido de tioglicolato e incubando a 35-37° C., por lo menos durante siete días. Al hacer el subcultivo, la antitoxina debe diluirse suficientemente para excluir la posibilidad de inhibición del desarrollo por efecto bacteriostático del conservador contenido en la antitoxina original. La prueba para *pirógenos* prescribe que la inyección intravenosa de 3,0 c.c. de antitoxina por kilo de peso corporal a cada uno de tres conejos ocasionará una elevación de temperatura no superior a 1,1° C. comprobada por un mínimo de tres lecturas hechas con intervalos de una hora después de la inoculación.

Todos los envases definitivos de antitoxina diftérica deben contener una cantidad de antitoxina en exceso de la que se indica en la etiqueta. El exceso de antitoxina que existe en el envase determina el intervalo de tiempo entre la fecha de preparación y la expiración. La fecha de expiración es un año después de la fabricación si el frasco contiene un 20 por ciento más de antitoxina que la expresada en la etiqueta, dos años si hay un 30 por ciento de exceso, tres años si el 40 por ciento y cuatro años si se ha añadido un exceso de 50 por ciento. La fecha de expiración para la antitoxina desecada llega a ser hasta de cinco años si el material original contiene un exceso del 10 por ciento.

Las siguientes normas mínimas para el *toxoide diftérico* han sido extractadas de los requerimientos del Instituto Nacional de Higiene de EE. UU. revisadas el 1 de marzo de 1947. Un requerimiento muy esencial para un toxoide es el de que pro-

venga de una toxina de alta potencia. La toxina original debió tener una D.L.M. que no exceda de 0,0025 c.c., o una dosis L+ no mayor de 0,20 c.c. Además, no se permiten substancias que puedan causar alergia como proteína de caballo o peptona de Witte en el caldo de cultivo utilizado para la fabricación de la toxina.

El *toxoide diftérico líquido* o *toxoide diftérico simple* debe ser privado de toxicidad con formol que contenga no menos de 37,0 por ciento de aldehido fórmico gaseoso y, después de hecho atóxico, la solución no deberá tener un residuo de más de 0,02 por ciento de formaldehido libre. La ausencia de toxicidad del producto se prueba por inyecciones subcutáneas a cobayos de 300 a 400 g de peso, con una dosis de toxoide no menor de 2,0 c.c., pero por lo menos quíntuple del volumen indicado para una sola inyección en el hombre.

Deben inyectarse por lo menos cuatro cobayos y hacerse exámenes diarios por un período de 30 días. Durante este tiempo no deben manifestarse signos tóxicos, como grandes áreas de necrosis o parálisis. A todo animal que muera antes de los 30 días debe hacérsele necropsia para buscar signos de intoxicación diftérica.

Las pruebas de poder antigénico se llevan a cabo por inyecciones subcutáneas de un mínimo de diez cobayos de 270 a 320 g de peso, con dosis de toxoide que no excedan del sexto del volumen recomendado para la dosis inmunizante total. La inmunidad de cada uno de los animales de la prueba se verifica, no más de seis semanas después, por inoculación subcutánea de 2 c.c. de toxina diftérica que contenga por lo menos 10 D.L.M. La potencia de la toxina empleada en la prueba se averigua por la inyección de 2 c.c. de dilución al 1 por 10 a un mínimo de dos cobayos de 250 g de peso. Para que la prueba sea satisfactoria los cobayos testigos deben morir en unos cuatro días y el 80 por ciento de los inmunizados deben sobrevivir por lo menos diez días.

El *toxoide diftérico precipitado con alumbre* debe prepararse a partir de toxoide líquido que cumpla con las especificaciones descritas arriba para la toxina original y el tratamiento con formol. El otro ingrediente usado en la preparación debe ser alumbre de potasio 99,5 por ciento puro; después del tratamiento no se permite más de 15 mg de alumbre en el volumen que se va a usar para una sola inyección al hombre. La prueba para el poder antigénico del toxoide precipitado difiere de la del toxoide líquido en que se mide la capacidad de producir antitoxina, no la de sobrevivir a una dosis de prueba de la toxina. Se utilizan cobayos de 500 g de peso; cada animal recibe una única inyección subcutánea de toxoide que no contenga más de la mitad de la dosis humana total inmunizante. Para que la prueba sea satisfactoria, a las cuatro semanas una mezcla de sueros, a partes iguales, obtenida de un mínimo de cuatro cobayos, debe presentar un título de antitoxina no menor de 2 unidades por c.c. determinado por el método de L+.

Las pruebas para esterilidad e identidad son similares a las descritas en los requerimientos mínimos para la antitoxina diftérica. La fecha de expiración es de dos años después de que el producto ha sido sometido a una prueba satisfactoria de potencia.

TOXINA Y ANTITOXINA TETANICAS

La exotoxina de *Clostridium tetani*, llamada tetanoespasmina, es una substancia mucho más tóxica que la toxina diftérica. Así, por ejemplo, el Instituto Nacional de Higiene de EE. UU. requiere que la toxina tetánica original utilizada para la elaboración del toxoide tetánico tenga una D.L.M. para los cobayos no mayor de 0,0001 c.c., o 10 000 D.L.M. por c.c. del caldo tóxico, mientras que la toxina difté-

rica es aceptable cuando contiene 400 D.L.M. de toxina por c.c. Eaton (1936b), usando una modificación del método de concentración que había empleado para aislar toxina diftérica, obtuvo preparados en los cuales la D.L.M. para cobayos de 500 g contenía de 0,000009 a 0,000018 mg de nitrógeno; o sea de 55 000 a 110 000 D.L.M. cobayo por mg de nitrógeno. Recientemente, Pillemer (1946), utilizando la extracción por alcohol para purificar la toxina tetánica, obtuvo preparaciones que ensayadas para efectos letales en ratones, dieron la enorme cifra de 75 000 000 de D.L.M. por mg de nitrógeno. La toxina tetánica, como la diftérica, se producen cultivando los microorganismos en un medio líquido y filtrando después el cultivo para separar los cuerpos bacterianos. Por supuesto, los cultivos en caldo de los bacilos del tétanos han de ser mantenidos en condiciones anaerobias.

Los experimentos relacionados con la composición de los medios empleados para obtener toxina han permitido mejorar considerablemente la producción de toxina tetánica potente. El medio clásico, un substrato con infusión de carne de ternera, peptona de Witte y glucosa, producía una buena toxina que contenía alrededor de 100 000 D.L.M. por mg, pero los toxoides preparados de esta toxina causaban con frecuencia reacciones anafilácticas en el hombre. Taylor (1945) substituyó la peptona por autolizado de estómago de cerdo y logró obtener una excelente producción de toxina. Los toxoides preparados con estas toxinas se emplearon ampliamente para inmunizar a seres humanos y hasta la publicación de Taylor no se había registrado caso alguno de anafilaxia. Mueller y Miller (1945), combinando el autolizado de estómago de cerdo con corazón de buey y glucosa y aumentando el contenido en hierro del medio, obtuvieron toxinas por lo menos cinco veces más potentes que las proporcionadas por el medio de Taylor. Una parte de esta toxina tetánica fué suministrada a Pillemer, cuyo método de concentración se expone luego.

Durante la segunda Guerra Mundial se perfeccionó la extracción de proteínas de los materiales biológicos empleando alcohol como agente precipitante, en condiciones muy estrictas de temperatura y pH (Cohn, 1941). Este método de extracción por alcohol suprime muchas de las dificultades encontradas en la precipitación por sales, como el largo período de diálisis requerido para su separación. Pillemer (1946), usando alcohol metílico como precipitante, encontró, por cálculo del nitrógeno, que la toxina tetánica bruta podía encontrarse más de 300 veces por precipitación a pH 5,1 en metanol al 40 por ciento a 5° C. Efectuando el cálculo según el volumen, determinando la D.L.M. y la L_f, la concentración fué de 5 000 veces. Este método permitió preparar una toxina (originalmente del laboratorio de Mueller) que contenía 16 000 000 de D.L.M. y 24 000 unidades L_f por mg de nitrógeno. Una purificación mayor dió por resultado un producto cristalino que contenía 75 000 000 de D.L.M. por mg de nitrógeno.

El toxoide tetánico fué concentrado 5 000 veces en volumen usando el mismo procedimiento empleado en la precipitación de la toxina, excepto que el pH fué de 4,8 a 4,9. El alto grado de purificación obtenido por los procedimientos de extracción alcohólica se comprueba por el hecho de que el toxoide puro no produce anafilaxis en cobayos sensibilizados por inyecciones de los medios de cultivo estériles, incluso cuando la toxina se produjo originalmente en caldo peptonado (Pillemer, Grossberg y Wittler, 1946).

El filtrado de un cultivo en caldo de bacilos tetánicos contiene, además de la tetanoespasmina, una substancia llamada por Ehrlich *tetanolisina*, que hemoliza los glóbulos rojos de diversos animales. La tetanolisina es distinta de la tetanoespasmina y se puede separar de ésta por absorción del caldo con glóbulos rojos. La tetanolisina es antigénica; produce una antihemolisina si se inyecta a los animales.

Unidades de toxina y antitoxina tetánicas. Aunque hay una tendencia creciente a usar ratones suizos blancos puros para valorar la toxina tetánica, la D.L.M. oficial en Estados Unidos es *la menor cantidad de toxina que causa la muerte de un cobayo de 350 g de peso en plazo de cuatro días.*

La unidad más importante de toxina para valorar las antitoxinas tetánicas es la T.D.* o dosis de prueba correspondiente en principio a la dosis L+ de la toxina diftérica, pero diferente en la cantidad real de substancia empleada. La dosis de prueba de toxina es distribuída por el Instituto Nacional de Higiene de EE. UU. y se define como *la cantidad de toxina que combinada con 0,1 de unidad de antitoxina tipo ocasionará la muerte a un cobayo de 350 g en unos cuatro días con síntomas de tétanos.*

La unidad tipo oficial de antitoxina que se ha venido utilizando en EE. UU. desde 1907 es la cantidad de antitoxina contenida en 0,00015 g de un suero antitóxico de caballo desecado sin concentrarlo previamente. Esta unidad, conocida como la *unidad del Instituto Nacional* o *unidad americana*, es doble qua la *unidad internacional;* 3 000 unidades internacionales equivalen a 1 500 unidades americanas.

Prueba de la floculación. Hasta recientemente, ha sido considerable la dificultad para disponer una buena prueba de floculación que pudiera substituir al método más costoso de la titulación animal en la valoración preliminar de la potencia de una toxina, toxoide o antitoxina. Ramon y Descombey, en 1926, describieron la reacción de floculación, pero observaron que también se presentaba la floculación en zonas que no correspondían al punto en que toxina y antitoxina se neutralizaban mutuamente. Moloney y Hennessy (1944) demostraron que estas zonas eran debidas a antígenos adicionales de la toxina y descubrieron dos de estos antígenos distintos de la toxina y capaces de flocular con la antitoxina. Uno de estos antígenos era termolábil (antígeno T.L.); el otro, termoestable (antígeno T.E.). Estos dos antígenos pudieron purificarse y, a su vez, emplearse para separar de la antitoxina los anticuerpos responsables de la floculación específica. Después de la separación de estos anticuerpos, sólo quedaba en el suero la antitoxina específica; las pruebas posteriores demostraron que la floculación óptima únicamente ocurría en el verdadero punto de neutralización. Mueller y Miller (1945) no han tenido dificultad ninguna en determinar una zona única de floculación neta usando la toxina de gran potencia producida en su medio de autolizado de estómago de cerdo y corazón de buey. Pillemer (1946), sin embargo, observó a veces una falsa zona de floculación, que pudo eliminar usando el método de Moloney y Hennessy.

Requerimientos mínimos de los productos biológicos tetánicos. La *antitoxina tetánica* está sujeta a los mismos requerimientos mínimos que la toxina diftérica en lo que se refiere a inocuidad, esterilidad, potencia y plazo de validez. También se emplean técnicas idénticas en la determinación de la potencia, excepto en que se usan cobayos de 350 g. La dosis de prueba oficial de toxina, distribuída por el Instituto Nacional de Higiene de EE. UU., se usa como en la titulación de la antitoxina diftérica; la T.D. es substituída por la dosis L+ de toxina.

Los requerimientos mínimos para los *toxoides tetánicos* son los mismos que para el toxoide diftérico, pero se exige que la toxina original tenga una T.D. de 0,01 c.c. como máximo, o una D.L.M. para el cobayo no mayor de 0,0001. Las pruebas de poder antigénico también son idénticas, sólo que los cobayos inmunizados activamente con toxoide puro pueden recibir una dosis inmunizante hasta llegar al tercio del volumen de toxoide que se ha recomendado como dosis humana total inmunizante.

* T. D., iniciales de las palabras inglesas *Test Dose* (dosis de prueba). (N. del T.)

Toxoides combinados. En la actualidad, los pediatras emplean casi exclusivamente toxoides combinados tetánico y diftérico en la inmunización de los niños. Tales mezclas son aceptables para el Instituto Nacional de Higiene de EE. UU. siempre que cada uno de los toxoides reúna los requisitos mínimos establecidos.

OTRAS TOXINAS Y ANTITOXINAS

Se han preparado antitoxinas contra las toxinas de muchos otros organismos productores de exotoxinas; también se han obtenido toxoides para inmunización activa. Excepto para las antitoxinas estafilocócica y estreptocócica, todos los métodos de titulación son similares a los ya descritos para las antitoxinas diftérica y tetánica; se basan en el uso de antitoxinas de referencia suministradas por el Instituto Nacional de Higiene de EE. UU.

La *antitoxina de la gangrena gaseosa* es polivalente; contiene antitoxinas para dos o más de las toxinas producidas por los organismos anaeróbicos relacionados con la gangrena gaseosa, a saber: *Clostridium perfringens, Cl. histolyticum, Cl. septicum, Cl. oedematiens* y *Cl. bifermentans.* Para las titulaciones se utilizan ratones y, excepto para *Cl. oedematiens,* las inyecciones de las mezclas toxina-antitoxina se hacen por vía intravenosa. El período de observación es de tres días, durante el cual por lo menos el tercio de los ratones inyectados con la mezcla patrón de toxina-antitoxina deben morir y un tercio habrán de sobrevivir. Se han preparado toxoides contra *Cl. perfringens* y *Cl. oedematiens* y se han ensayado para inmunizar animales; los protegen contra inyecciones de dosis mortales, tanto de las toxinas como de los microorganismos. También se han obtenido buenos títulos de antitoxina por inmunización humana (Tytell y col., 1947).

La *antitoxina botulínica* es también un preparado polivalente que contiene antitoxinas para varias toxinas específicas producidas por diferentes cepas de *Cl. botulinum.* La titulación se hace en ratones por inyección intravenosa. Se han utilizado toxoides para la inmunización de seres humanos (Reames y col., 1947).

También se ha preparado antitoxina contra las toxinas estafilocócica y estreptocócica, pero su titulación difiere de las ya descritas. Desde el advenimiento de la terapéutica por sulfonamida y penicilina, estas antitoxinas tienen relativamente poca importancia en el tratamiento de las infecciones; por lo tanto, se estudiarán en los capítulos sobre estafilococos y estreptococos.

BIBLIOGRAFIA

Bayne-Jones, S. *J. Immunol.,* 1924, 9:481.
von Behring, E. *Deutsche Med. Wchnschr.,* 1893, 19:543.
Cohn, E. J. *Chem. Rev.,* 1941, 28:395.
Danysz, J. *Ann. de l'Inst. Pasteur,* 1902, 16:331.
Dean, H. R., and Webb, R. A. *J. Path. & Bact.,* 1926, 29:473.
Eaton, M. D. *J. Bacteriol.,* 1936a, 31:347, 367.
——— *Pro. Soc. Exp. Biol. & Med.,* 1936b, 35:16.
Moloney, P. J., and Hennessy, J. N. *J. Immunol.,* 1944, 48:345.
Mueller, J. H., and Miller, P. A. *J. Immunol.,* 1941, 40:21.
——— *J. Immunol.,* 1945, 50:377.
Pappenheimer, A. M., Jr. *J. Biol. Chem.,* 1937, 120:543.
——— *J. Exp. Med.,* 1940, 71:263.
——— *J. Bacteriol.,* 1942, 43:273.
——— *Federation Proceedings,* 1947, 6:479.
——— and Johnson, S. J. *Brit. J. Exp. Path.,* 1936, 17:335.
——— Lundgren, H. P., and Williams, J. W., *J. Exp. Med.,* 1940, 17:247.
——— and Robinson, E. S. *J. Immunol.,* 1937, 32:291.
Parfentjev, I. A. *U. S. Patent* 2,065,196, 1936.

PETERMANN, M. L., and PAPPENHEIMER, A. M., JR. *J. Phys. Chem.*, 1941a, 45:1.
——— *Science*, 1941b, 93:458.
PILLEMER, L. *J. Immunol.*, 1946, 53:237.
——— GROSSBERG, D. B., and WITTLER, R. G. *J. Immunol.*, 1946, 54:213.
POPE, C. G. *Brit. J. Exp. Path.*, 1939, 20:132, 201, 213.
RAMON, G. *c. r. Soc. de Biol.*, 1922, 86:661.
——— and DESCOMBEY, P. *c. r. Soc. de Biol.*, 1926, 95:434.
REAMES, H. R., KADULL, P. J., HOUSEWRIGHT, R. D., and WILSON, J. B. *J. Immunol.*, 1947, 55:309.
RÖMER, P. H. *Ztschr. Imm.*, 1909, 3:208.
ROUX, E., and YERSIN, A. *Ann. de l'Inst. Pasteur.* 1888, 2:629.
SMOLENS, J., and FLAVELL, E. H. *J. Immunol.*, 1947, 57:173.
TAYLOR, E. M. *J. Immunol.*, 1945, 50:385.
TREFFERS, H. P., HEIDELBERGER, M., and FREUND, J. *J. Exp. Med.*, 1947, 86:83, 95.
TYTELL, A. A., LOGAN, M. A., TYTELL, A. G., and TEPPER, J. *J. Immunol.*, 1947, 55:233.

CAPITULO XV

ANTICUERPOS SENSIBILIZANTES

El término *anticuerpo sensibilizante* fué introducido por los defensores de la hipótesis *unitaria* como substituto de los múltiples nombres específicos usados comúnmente para designar a los anticuerpos responsables de los diferentes fenómenos observados en las pruebas serológicas. El término *precipitina*, por ejemplo, es aplicado usualmente al anticuerpo de un suero que, añadido a una solución clara que contiene el antígeno homólogo, da lugar a la formación de un precipitado. Los antígenos solubles que estimulan la formación de estos anticuerpos precipitantes se designan como *precipitógenos*. Así, pues, suelen denominarse los anticuerpos según los resultados que se observan cuando se mezclan con los antígenos en diferentes circunstancias; términos tales como aglutininas, anticuerpos fijadores del complemento, bacteriolisinas y opsoninas son corrientes en la literatura bacteriológica.

La mayor parte de los inmunólogos están de acuerdo en que el anticuerpo formado en respuesta a la inyección de un antígeno es capaz de reaccionar específicamente con el antígeno en el tubo de ensayo por diversos mecanismos que dependen de las condiciones en que se ejecute la prueba. Por ejemplo, el anticuerpo formado a consecuencia de la inyección de un antígeno soluble suele llamarse precipitina; pero si el mismo antígeno soluble reviste las superficies de partículas inertes de colodión, según la técnica de Cannon y Marshall (1940), la acción del anticuerpo es la de producir una agregación o aglutinación de las partículas. Sin embargo, si un suero da lugar a la agregación de los organismos de una suspensión bacteriana, el anticuerpo responsable del fenómeno se llama aglutinina.

El término *anticuerpo sensibilizante* es apropiado, puesto que los anticuerpos se combinan específicamente con el antígeno o lo sensibilizan. Los diversos tipos observados de reacciones antígeno-anticuerpo y las circunstancias en las cuales se obtienen estos efectos se muestran en el cuadro de la página siguiente.

Aunque se cree que los anticuerpos de diversa denominación antes citados son idénticos al anticuerpo sensibilizante, es dudoso que términos como aglutininas, anticuerpos fijadores del complemento u opsoninas desaparezcan, ya que especifican el tipo de prueba usada para medir el anticuerpo. En las reacciones antes citadas las técnicas de titulación del anticuerpo son muy diferentes y los valores obtenidos por los diferentes métodos pueden mostrar amplias discrepancias en el título de anticuerpo de un mismo suero. En consecuencia, un clínico que reciba un informe en términos de *anticuerpos sensibilizantes* no podrá interpretarlo, a menos que conozca la naturaleza de la prueba empleada para determinar el título del anticuerpo.

El concepto unitario de los anticuerpos no sólo tiene interés teórico, pues permite interpretar mejor los resultados obtenidos en las pruebas serológicas. La simple aglutinación de los organismos en el tubo de ensayo por un anticuerpo específico no causa ni la muerte, ni la lisis de las bacterias, ya que este último proceso sólo ocurre en presencia de complemento. Desde el punto de vista técnico, sin embargo, una prueba para bacteriocidinas específicas en suero es sumamente difícil porque

se necesita obtener un equilibrio óptimo entre bacterias, complemento y anticuerpo, así como la disposición de numerosos testigos. En forma similar, la determinación del índice opsónico es laboriosa. Según la hipótesis unitaria, sin embargo, la demostración de aglutininas específicas por sí sola es prueba suficiente de que el mecanismo productor de anticuerpos del paciente está respondiendo a la infección y que estos anticuerpos probablemente actúan en el cuerpo del paciente sensibilizando las bacterias infectantes, haciéndolas susceptibles a la fagocitosis, para acabar en muerte y lisis.

Estado físico del antígeno	Anticuerpo	Substancias accesorias	Efecto en el tubo de ensayo	Nombre usual dado al anticuerpo que produce el efecto
Suspensiones de partículas: bacterias, glob. rojos, etc.	Anticuerpo sensibilizante	Electrólitos	Agregación de las partículas	Aglutinina
Soluble: extractos de bacterias, suero de caballo, etc.	Anticuerpo sensibilizante	Electrólitos	Precipitación	Precipitina
En partículas o soluble	Anticuerpo sensibilizante	Complemento	Fijación del complemento	Anticuerpo fijador del complemento
En partículas	Anticuerpo sensibilizante	Leucocitos	Fagocitosis	Opsonina
En partículas con pared celular que se lisa fácilmente: ciertas bacterias, glob. rojos, etc.	Anticuerpo sensibilizante	Complemento	Lisis de las células	Bacteriolisina (bacterias), hemolisina (glob. rojos)
Bacterias vivas	Anticuerpo sensibilizante	Complemento	Muerte de las bacterias	Bacteriocidina

En las enfermedades infecciosas, el tipo de prueba que se usa para determinar la cantidad de anticuerpo sensibilizante depende en gran parte de los caracteres físicos del antígeno. La reacción de aglutinación, por ejemplo, es buena para determinación de anticuerpos, si la suspensión bacteriana es estable y homogénea. Con antígenos de hongos, sin embargo, la reacción de fijación del complemento resulta mejor porque las grandes células y los micelios entrelazados hacen suspensiones impropias para observar la aglutinación, y los títulos de anticuerpos suelen ser demasiado débiles para producir una buena precipitación con extractos de hongos.

Anticuerpos antibacterianos. Los anticuerpos antibacterianos son, por definición, los que se forman en el organismo en respuesta a la estimulación por bacterias vivas o muertas; se distinguen así de las antitoxinas que se forman en respuesta a las exotoxinas o a la inyección de toxoides. Es difícil decidir si hay alguna diferencia significativa entre el anticuerpo antibacteriano y el anticuerpo antitoxina. Las toxinas parecen ser mucho más antigénicas, a juzgar por la capacidad de dosis relativamente pequeñas de suero inmune para proteger a los animales susceptibles contra dosis mortales de toxina, pero por otra parte las exotoxinas son tan venenosas que cantidades increíblemente pequeñas son suficientes para ocasionar la muerte. Como

las exotoxinas son substancias solubles y, por tanto, no sujetas a aglutinación, fagocitosis, lisis o muerte, la reacción de precipitación es el único método de comparar los dos tipos de anticuerpos. La inhibición de la precipitación en la zona con exceso de anticuerpo, característica de la reacción toxina-antitoxina, ha sido utilizada para sostener que las antitoxinas difieren esencialmente de los anticuerpos antibacterianos; pero estas diferencias parecen menos significativas en vista de los estudios recientes acerca de los efectos de la vía de administración sobre el tipo de anticuerpo formado. Este punto ha sido tratado en los Capítulos XIII y XIV.

Desde el punto de vista médico, es esencial considerar la antitoxina como un tipo de anticuerpo enteramente diferente del anticuerpo antibacteriano o sensibilizante. Las antitoxinas sólo tienen la función de neutralizar los efectos venenosos de la toxina; no ejercen efectos sensibilizantes sobre las bacterias que producen la toxina.

REACCION DE PRECIPITACION

El estudio de las precipitinas precede al de los anticuerpos antibacterianos comúnmente empleados en diagnóstico bacteriológico, porque los mejores datos concernientes a las relaciones cuantitativas entre antígeno y anticuerpo sensibilizante se han obtenido estudiando la reacción de precipitación. Las bacterias son organismos vivos complejos que contienen muchos antígenos diferentes, situados diversamente en el interior de la célula o en su superficie; cada uno de los antígenos puede por separado inducir a la formación del anticuerpo específico. Los estudios serológicos por técnicas que emplean la totalidad de la bacteria se complican no sólo por el número de anticuerpos específicos existentes en el suero, sino también por el número y disposición de antígenos en la célula bacteriana.

Kraus, en 1897, demostró que los sueros de los animales inmunizados con bacilos de la peste, bacilos tíficos o vibrión colérico formaban precipitados cuando se mezclaban con filtrados de caldos de cultivos de los organismos homólogos. Como el suero de un animal inmunizado con una bacteria particular no producía precipitación cuando se mezclaba con el filtrado de un cultivo de un microbio diferente, la substancia precipitante fué reconocida como anticuerpo específico y llamada *precipitina.*

Pronto se descubrió que la formación de precipitinas no se limitaba a las inmunizaciones bacterianas, sino que también substancias no bacterianas eran capaces de inducir a la formación de anticuerpos precipitantes cuando se inyectaban a los animales. Los sueros animales, por su contenido en proteína antigénica, dan lugar a la formación de precipitinas cuando se inyectan a animales de otras especies. La prueba de la precipitina tiene alguna de sus aplicaciones prácticas más útiles en campos ajenos a la Bacteriología y a las enfermedades infecciosas. En el campo de la Medicina forense, la prueba de las precipitinas se puede emplear para identificar la especie de un animal por las manchas de su sangre. Los entomólogos aplican también esta técnica para determinar los hábitos alimenticios de ciertos mosquitos, ya que pueden descubrir el animal al que pertenece la sangre que se halla en el estómago de los mosquitos capturados después de picar.

Las reacciones de precipitación no se usan extensamente en la práctica bacteriológica corriente, porque las pruebas serológicas empleando suspensiones bacterianas son más fáciles de ejecutar. Al disponer una reacción de precipitación, lo esencial es que el antígeno esté contenido en una solución clara, puesto que el menor enturbiamiento dificulta la interpretación. El método de Lancefield para determinar el tipo de estreptococo es un ejemplo excelente de aplicación práctica de la prueba

de precipitinas a los problemas bacteriológicos. Un estreptococo desconocido se extrae por ácido y calor y se obtiene una solución clara. Este extracto se deposita sobre pequeños volúmenes de sueros inmunes de conejo, cada uno de los cuales contiene anticuerpos específicos para uno de los tipos conocidos de estreptococo. El tipo del estreptococo desconocido se determina observando el suero que produce precipitado. La reacción se usa también como prueba diagnóstica en coccidioidomicosis, proceso micótico que describiremos más adelante. Se usa como antígeno una solución clara de *coccidioidina*, extracto del cultivo del hongo en caldo; se mezcla con los sueros de los pacientes sospechosos de tener la infección. La prueba de *Ascoli* es otra de este tipo que permite hacer un diagnóstico *postmortem* del carbunco aun cuando los tejidos del animal ya estén descompuestos. En este caso, las precipitinas están contenidas en los sueros de conejos inmunizados activamente con bacilos carbuncosos; se usa como antígeno un extracto del tejido animal. La formación de un precipitado indica la presencia en los extractos de tejidos de antígenos específicos del bacilo del carbunco. La prueba de la precipitina es la más sencilla de todas las reacciones serológicas, puesto que sólo requiere antígeno, anticuerpo y un electrólito; todas las otras reacciones, exceptuando la aglutinación, requieren una tercera substancia de naturaleza biológica. Los estudios acerca de la reacción de precipitación se facilitaron al introducirse en Inmunología el concepto de hapteno. Los haptenos, según se ha indicado en el Capítulo XIII, son substancias que contienen los grupos químicos específicos responsables de la reacción antígeno-anticuerpo, pero que no son antigénicos por sí mismos. Como la estructura química de los haptenos es mucho más simple que la del antígeno completo, no es sorprendente que la mayor parte de las reacciones serológicas cuantitativas hayan sido practicadas con complejos de hapteno y anticuerpo.

La mayor parte de los estudios cuantitativos de reacciones precipitínicas ha sido hecha con anticuerpos obtenidos por inmunización de conejos. El conejo es ideal para ello, no solamente por su relativa baratura y tamaño conveniente, sino también porque probablemente es el mejor productor de precipitinas; el ratón no tiene bastante sangre para investigaciones serológicas amplias. Aunque los experimentos efectuados con sueros de conejo han producido información de valor sobre los mecanismos de las reacciones antígeno-anticuerpo, existe el peligro de que las generalizaciones hechas a partir de los resultados obtenidos únicamente con este animal puedan ir demasiado lejos. El hecho de que los polisacáridos de algunos neumococos no son antigénicos en conejos y son capaces de inducir la formación de anticuerpos en el ratón y en el hombre, demuestra las notables diferencias que existen entre las especies animales.

La reacción de precipitación, observada en el suero de conejo, difiere notablemente de la reacción toxina-antitoxina, efectuada generalmente con suero de caballo, en que el exceso de anticuerpo no impide la formación de precipitado en el tubo de ensayo. El exceso de antígeno en la mezcla sí inhibe la formación de precipitado. En consecuencia, se ideó un tipo peculiar de prueba para titular la precipitina contenida en un suero, a saber: el título de precipitina de un suero se expresa como *la mayor dilución de antígeno* que dará un precipitado visible cuando se mezcla con una *cantidad constante de antisuero*. Este método ha sido usado por los bacteriólogos durante años a pesar de que es un método más apropiado para titular antígeno que anticuerpo (Culbertson, 1932). Este punto será estudiado con mayor detalle, luego.

Factores que influyen en la formación de un precipitado. La precipitación no tiene lugar en ausencia de electrólitos, aun cuando la unión de antígeno y anti-

cuerpo tenga lugar en ausencia de sal. La prueba de esta combinación es indirecta ya que la ausencia de un precipitado no permite centrifugar y valorar en el líquido remanente el antígeno y el anticuerpo. Estudios de aglutinación, sin embargo, han demostrado que ésta no se produce cuando las bacterias se mezclan con antígeno en agua destilada. Después que se han separado los organismos por centrifugación, los ensayos de los líquidos remanentes demuestran que el anticuerpo se ha separado de la solución y que la aglutinación de las bacterias tiene lugar si las células centrifugadas son suspendidas en solución salina. En forma similar, se ha demostrado que la toxina y la antitoxina diftéricas se combinan en ausencia de sal, pero no floculan (Follensby y Hooker, 1939).

La precipitación tiene lugar en etapas. El primer paso es la combinación del antígeno y el anticuerpo sensibilizante o precipitina. En el segundo, esta combinación salino-sensible, antígeno-anticuerpo, se precipita por el electrólito. Aunque hay un amplio margen en las concentraciones de sal que producen la precipitación, un exceso de electrólito puede disminuir la cantidad de anticuerpo precipitado (Heidelberger, Kendall y Teorell, 1936). El efecto de los electrólitos ha sido estudiado con mayor detalle en la reacción de aglutinación y será tratado en la sección correspondiente.

Dentro de ciertos límites, la temperatura a la que tiene lugar la reacción de precipitación modifica poco la cantidad de anticuerpo precipitado (Heidelberger, Treffers y Mayer 1940). La mayor rapidez de la reacción a temperaturas más altas se debe posiblemente al aumento de actividad molecular y a la mayor frecuencia de choques. En frío se forma más precipitado por disminuir la solubilidad a baja temperatura.

Entre pH 6,6 y 8,0 la cantidad de precipitado es prácticamente constante (Marrack, 1938). Por debajo de pH 4,5 y por encima de pH 9,5 el precipitado tiende a disolverse (Mason, 1922).

Titulación de las precipitinas. Se han empleado por lo menos cinco métodos diferentes para determinar cuantitativamente el anticuerpo en un suero precipitante. Sin embargo, el método más comúnmente elegido en la práctica no es una medida del anticuerpo, sino del antígeno. Las circunstancias que llevaron a la adopción casi universal de este método de titulación se pueden explicar con mayor facilidad después de considerar el método microquímico de la titulación de precipitina.

La aplicación del micrométodo de Kjeldahl para medir la cantidad de nitrógeno en pequeñas muestras de material biológico, significó la introducción de técnicas químicas sensibles aplicables al problema de la titulación de precipitina. Como resultado de ello, la cantidad de anticuerpo específico en un suero particular se expresa en términos de unidades absolutas, como miligramos de nitrógeno del anticuerpo o miligramos de anticuerpo, obtenidos multiplicando aquella cifra por el factor de conversión para proteínas. Usando este método para estudiar varios antígenos, en diferentes condiciones, Heidelberger llegó a una formulación casi completa de la relación cuantitativa entre antígeno y anticuerpo. Muchos de los experimentos originales fueron ejecutados con el polisacárido específico libre de nitrógeno del neumococo de tipo III. En resumen, el método consiste en disponer una serie de reacciones de precipitación empleando cantidades constantes de anticuerpo y cantidades crecientes de antígeno. El análisis microquímico de los precipitados para determinar su contenido en nitrógeno indica exactamente la cantidad de nitrógeno del anticuerpo precipitado por cada concentración de antígeno. Con cantidades crecientes de antígeno se precipita mayor cantidad de nitrógeno del anticuerpo hasta

alcanzar un nivel en el cual todo el anticuerpo puede considerarse precipitado; en esta zona, las pruebas para demostrar el antígeno y el anticuerpo en los líquidos remanentes son negativas. Esta región de la curva ha sido denominada por Heidelberger la *zona de equivalencia.*

Si las cantidades de nitrógeno precipitado se indican en ordenadas contra las cantidades de antígeno añadido en abscisas, se obtiene una curva que se eleva rápidamente y se acerca a la horizontal en la zona de equivalencia. Esta curva se puede expresar por la ecuación empírica $y = ax - bx^2$ la cual, si las razones y/x se representan frente a x, se convierte en la línea recta,

$$y/x = a - bx.$$

La fórmula puede escribirse así:

$$N/A = 2R - R^2A/a$$

donde N = miligramos de nitrógeno precipitados en un punto
y A = la cantidad de nitrógeno del antígeno añadido en este punto.

El valor $2R$ es el comienzo de la línea donde $A = O$; y a = miligramos de nitrógeno de anticuerpo en el suero. La fórmula se puede aplicar a los datos obtenidos en la región del exceso de anticuerpo y en la zona de equivalencia, hacia el lado de este exceso de anticuerpo.

Los siguientes datos ilustran el método de cálculo:

MG DE ANTÍGENO AÑADIDO "A"	TOTAL DE MG DE NITRÓGENO PRECIPITADO	MG DE NITRÓGENO DE ANTICUERPO PRECIPITADO "N"	RELACIÓN "N/A"
0,031	0,532	0,501	16,0
0,047	0,734	0,678	14,8
0,062	0,893	0,831	13,4

Si los valores de N/A se representan frente a A, se encuentran situados en una línea recta que, si se extrapola a la ordenada $A = O$, da la cifra 18,7 para N/A. Por lo tanto, R es igual a la mitad de este valor, o sea, 9,35. Este valor R puede substituirse en la ecuación antes indicada y utilizando cualquier valor observado para N en cada punto particular A, se puede calcular el nitrógeno del anticuerpo en el suero "a". En el ejemplo citado, el valor para "a" es 1,025; representa la cantidad de nitrógeno de anticuerpo en el volumen de suero ensayado. Multiplicando esta cifra por el factor de conversión 6,25, se puede calcular que esta cantidad de suero contenía 7.6 mg de proteína anticuerpo.

En la región del exceso de antígeno disminuye la cantidad de precipitado; la precipitación se inhibe del todo por un exceso relativamente grande de antígeno.

Siguiendo este tipo de estudios, Heidelberger (1938) analizó cierto número de sistemas antígeno-anticuerpo, incluyendo substancias antigénicas como albúmina de huevo, seroalbúmina, tiroglobulina y el polisacárido del neumococo de tipo III. De estos análisis dedujo cierto número de fórmulas empíricas de las composiciones moleculares de los precipitados encontrados en las diversas zonas. Con miras a mantener la uniformidad, en este libro hemos adoptado el plan de usar letras mayúsculas como símbolos de los antígenos y letras minúsculas para designar los anticuer-

pos correspondientes. Cambiando los símbolos, las fórmulas de Heidelberger para los precipitados de neumococo de tipo III y su anticuerpo se representan como sigue:

1) Aa En la zona de extremo exceso de anticuerpo.
2) A_3a_2 En el extremo de exceso de anticuerpo de la zona de equivalencia.
3) A_2a En el extremo de exceso de antígeno de la zona de equivalencia.
4) A_4a En la zona de inhibición causada por exceso de antígeno.
5) A_5a El compuesto soluble en la zona de inhibición completa.

Estos compuestos representan las fórmulas establecidas para indicar las relaciones de las dos substancias. Conforme las reacciones avanzan, los compuestos se agregan para formar los precipitados floculantes que se pueden formular como $(A_2a)_w$, $(A_4a)_x$ y así sucesivamente.

Las fórmulas varían según los antígenos; las de reacción de la tiroglobulina con su anticuerpo, para las cinco zonas citadas, son como sigue: Tt_{40}, Tt_{14}, Tt_{10}, Tt_2 y Tt.

No hay duda que el método microquímico ha proporcionado los mejores datos cuantitativos correspondientes a la reacción de precipitación, y que tiene gran utilidad en inmunología experimental. La técnica debe seguirse con rigor, el precipitado debe lavarse cuidadosamente y todos los análisis serán hechos por duplicado o triplicado. El procedimiento requiere también cantidades relativamente grandes de suero. Es por esta razón que el bacteriólogo necesita otras técnicas, más sencillas, para efectuar las reacciones de precipitinas en el laboratorio.

La técnica más comúnmente preferida para la titulación de precipitinas puede ser descrita como el método del *punto final*, en que el título se expresa como la mayor dilución de antígeno que produce un precipitado visible cuando se mezcla con suero. Esta técnica es justamente la inversa del método usado en la aglutinación, en la cual el título se expresa como la mayor dilución de suero que produce el fenómeno del agrupamiento. Como el problema estriba en determinar la cantidad de anticuerpo de un suero, un método basado en diluir el suero es mucho más lógico. Los primeros investigadores encontraron, sin embargo, que los sueros inmunes rara vez producen precipitados cuando se diluyen a más del 1/10 ó 1/20, mientras que el antígeno se podía diluir tanto como al 1/100 000 ó 1/1 000 000 y la precipitación sigue teniendo lugar. Este procedimiento ha sido aceptado universalmente como el más sencillo, pero satisfactorio, de titulación de precipitina. Ello implica que un suero capaz de precipitar un antígeno diluído al 1/1 000 000 es diez veces más fuerte que uno que produzca un precipitado con el mismo antígeno diluído al 1/100 000.

La titulación de precipitinas por este método requiere cantidades relativamente grandes de suero, puesto que se necesitan una serie de tubos con cantidades iguales de suero no diluído o poco diluído y cantidades variables de antígeno. A fin de ahorrar suero se introdujo el método llamado *prueba del anillo*, que consiste en poner pequeñas cantidades de suero en tubos de pequeño diámetro o capilares, y depositar sobre el suero las diferentes diluciones del antígeno. El precipitado que se forma en la superficie de contacto puede ser observado fácilmente y el título se expresa en términos de dilución del antígeno.

Ahora parece evidente que la técnica del suero diluído con antígeno constante no podía descubrir títulos altos de precipitina, por usar una concentración demasiado fuerte de antígeno en la prueba. La acción inhibidora del exceso de antígeno sobre la formación de precipitado era tan grande que no se formaba precipitado en los tubos que contenían suero diluído, aun en grado moderado. Sin embargo, esta zona de inhibición no se observaba en la prueba del anillo, porque la formación

de un precipitado en la unión del suero y el antígeno produce una barrera mecánica que protege al precipitado de la acción disolvente del exceso de antígeno.

El punto final obtenido por el procedimiento de la dilución del antígeno en realidad mide la concentración del antígeno y no tiene relación con el contenido en anticuerpo de un suero (Culbertson, 1932). En circunstancias adecuadas, la técnica de dilución del antígeno es muy útil, pero debe subrayarse que no es una medida cuantitativa de los anticuerpos. En la identificación de especies animales por las manchas de sangre se usa exclusivamente la técnica de dilución del antígeno, puesto que ocurren reacciones cruzadas cuando se utilizan concentraciones demasiado fuertes de sangre. Con diluciones mayores del mismo material en solución salina se eliminan estas reacciones cruzadas, y sólo se produce precipitado en un suero preparado de antemano por inmunización del animal con sangre homóloga. En este caso no se mide el título de anticuerpo de los sueros inmunes sino la cantidad de antígeno específico en el material desconocido. Por el uso de este método ha sido posible reconocer el origen animal de manchas secas de sangre aun después de meses de desecación y en diluciones tan altas como al 1/50 000.

Otra técnica de titulación de precipitinas consiste en disponer una serie de tubos que contengan cantidades constantes de suero y variables de antígeno, y registrar el título según la mezcla productora de la mayor cantidad de precipitado. El título obtenido por este procedimiento es proporcional al verdadero título de anticuerpo del suero, pero no es un valor absoluto, puesto que el precipitado más denso se encuentra en la región de un ligero exceso de antígeno (Dean y Webb, 1926). El mayor volumen de precipitado se forma también en presencia de un pequeño exceso de antígeno (Dean, 1917).

El método de las proporciones óptimas para titular precipitinas fué introducido por Dean y Webb en 1926. La técnica consiste en disponer una serie de tubos con cantidades constantes de suero y diluciones progresivamente crecientes de antígeno y observar el tubo en el cual la precipitación es más rápida. Este método es análogo al de floculación usado en las titulaciones toxina-antitoxina, sólo que en el último el antígeno se mantiene constante, la cantidad de suero varía y los intervalos entre las diluciones son mucho menores.

El título de anticuerpo en el método de las proporciones óptimas se calcula por la cantidad de antígeno que flocula más rápidamente con el suero en cuestión. Marrack y Smith (1931) propusieron como unidad de anticuerpo la cantidad que reacciona óptimamente con 1 μg de antígeno. Excepto por algunas dificultades técnicas este método de titulación es bueno. Sin embargo, resulta imposible preparar simultáneamente las mezclas en todos los tubos, y en algunos sistemas de precipitación la reacción procede con tal rapidez que es difícil determinar el tubo que primero presentó la precipitación. Con sistemas reactivos más lentos el método es mejor. Como se han publicado algunas dudas acerca de la exactitud del método de las proporciones óptimas, uno de nosotros (Martin, 1943a), usando el fotronreflectómetro, siguió el desarrollo del precipitado, cuando se mezclaban cantidades variables de polisacárido de neumococos de tipo I con cantidades constantes de anticuerpo (figura 28). Con suero diluído al 1/50 (dilución final de la mezcla, 1/100) la solución más rápida ocurría con el antígeno diluído al 1/40 (dilución final de la mezcla, 1/80), que contenía 0,0125 mg de polisacárido por c.c. En esta figura se puede ver que las soluciones más concentradas de antígeno (1/20 y 1/40) producían un precipitado mayor cinco minutos después del momento de efectuar la mezcla, pero que en los períodos iniciales se formaba más lentamente que con la dilución óptima al 1/80. Que la dilución al 1/80 era la óptima se confirmó por la ausencia tanto de

antígeno como de anticuerpo en el líquido remanente. La mayor derivación en la región del exceso de antígeno confirmó la observación previa de que el volumen y el peso mayores de precipitado se encontraban de ligero exceso de antígeno. La inhibición por exceso de antígeno puede verse en la curva producida por el antígeno diluído al 1/10.

El título de este suero en términos del antígeno podría ser calculado como 1 250 unidades por c.c., puesto que una dilución de suero al 1/100 reaccionó óptimamente con 0,0125 mg ó 12,5 μg de antígeno. Con el suero diluído al 1/400 la precipitación procedió mucho más lentamente; ocurrió la precipitación más rápida con el antígeno diluído al 1/320, que contenía 0,003125 mg de antígeno. Con el suero diluído al 1/200, la cantidad de 0,00625 mg fué la óptima, demostrando que conforme el suero era diluído por mitades, la cantidad de antígeno óptima para la dilución particular del suero también se reducía a la mitad.

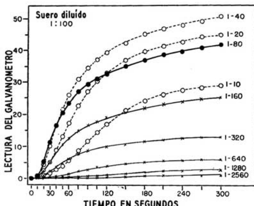


FIG. 28. VELOCIDADES DE FORMACIÓN DEL PRECIPITADO.

Demostradas por desviaciones galvanométricas; observadas con mezclas de cantidades constantes de suero y cantidades variables de antígeno. Círculos claros: el líquido que sobrenada contiene exceso de antígeno; *X:* el líquido que sobrenada contiene exceso de anticuerpo; círculos negros: el líquido que sobrenada no contiene exceso de antígenos ni de anticuerpo. (De Martín, *J. Lab. & Clin. Med.*, 1943, 28:870.)

En 1932, Culbertson propuso un método de titulación por *neutralización* que da una medida exacta de la precipitación en un suero. En resumen, el método consiste en disponer una serie de mezclas que contengan cantidades constantes de suero y cantidades variables de antígeno, como en la serie de Dean-Webb. Aquí, sin embargo, se dejan en reposo los tubos hasta que se formen los precipitados; cada líquido remanente se ensaya para demostrar la presencia de antígeno o anticuerpo residuales por adición de anticuerpo y antígeno a partes alícuotas del líquido. En el punto de neutralización no habrá ni antígeno ni anticuerpo en el líquido rema-

nente, indicando la precipitación completa de ambas substancias. El método es satisfactorio si el antígeno y los anticuerpos son puros. Así, Culbertson pudo titular un suero que contenía anticuerpo contra albúmina de huevo cristalizada, pero si se empleaba como antígeno un suero animal, la prueba no se podía efectuar por la presencia de varias substancias que reaccionaban en el antígeno y más de un anticuerpo en el suero precipitante.

Los títulos de precipitinas se pueden determinar con precisión por dilución del antisuero (Martin, 1943b). La técnica consiste en preparar una serie de tubos que contengan diluciones crecientes de suero y cantidades constantes de antígeno; el punto esencial es la selección de la dosis adecuada de antígeno. Esta dosis se puede escoger por una determinación previa de la menor cantidad de antígeno capaz de dar un precipitado visible en período determinado de tiempo. Empleando esta cantidad mínima de antígeno se elimina el efecto inhibidor del exceso de antígeno. Lo fundamental de la reacción se ilustra por los datos de la tabla siguiente.

Dilución del suero	Concentración de antígeno (μg por c.c.)										
	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125
1/25	+)	±	(+	(+	(+	(+	(+	(+	(+	(+	—
1/50	+)	+)	±	(+	(+	(+	(+	(+	(+	(+	—
1/100	+)	+)	+)	±	(+	(+	(+	(+	(+	(+	—
1/200	+)	+)	+)	+)	±	(+	(+	(+	(+	(+	—
1/400	—	+)	+)	+)	+)	±	(+	(+	(+	(+	—
1/800	—	—	+)	+)	+)	+)	±	±	(+	(+	—
1/1 600	—	—	—	—	+)	+)	+)	±	±	±	—
1/3 200	—	—	—	—	—	—	—	±	±	±	—
1/6 400	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—
1/12 800	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

\+ precipitado
) exceso de antígeno en el líquido remanente
(exceso de anticuerpo en el líquido remanente
— Líquido remanente negativo para antígeno y anticuerpo

(Según Martin, *J. Lab. and Clin. Med.*, 1943, 28:1477.)

De estos datos resulta evidente el efecto de la concentración de antígeno sobre los títulos obtenidos por el método de dilución del suero. Así, por ejemplo, si se hubiese usado una concentración de 128 μg de antígeno por c.c., el título del suero se habría estimado como 1/200, mientras que si se empleaba un antígeno que contenía 0,25 μg por c.c. el título obtenido era de 1/6 400.

Cuando se conoce la cantidad de antígeno añadido en unidades absolutas, el título del suero deberá expresarse en antígeno. En este caso, una dilución de suero al 1/6 400 precipitó 0,25 μg de antígeno, indicando que el suero no diluído era capaz de precipitar 1 600 μg ó 1,6 mg de antígeno.

La técnica anterior también ha sido utilizada con éxito para titular sueros que contienen anticuerpos de proteínas como albúmina de bovinos (Martin y col., 1943). En estos experimentos la concentración mínima de antígeno necesaria para dar un precipitado visible después de dos horas a la temperatura de la habitación fué de 3,9 μg por c.c.

Cuando se aplicó al sistema neumococo de tipo I-antisuero de conejo, la técnica de neutralización de Culbertson proporcionó el mismo título de anticuerpo que el método de dilución del suero. También se probó la técnica de Dean-Webb en series de antígenos usando suero diluído al 1/100 y se encontró que la solución de antígeno que contenía 16 μg reaccionó óptimamente, confirmando el título de 1 600 unidades de anticuerpo por c.c. obtenido por los otros dos métodos.

Se puede usar un tipo indirecto de precipitinorreacción para demostrar que la especificidad del anticuerpo se orienta hacia un hapteno, el cual, cuando se utiliza como antígeno de prueba, es incapaz de producir un precipitado visible. La histamina, por ejemplo, no es antigénica por sí misma, pero cuando se diazoa con una proteína, estimula la producción de anticuerpos. Los anticuerpos forman un precipitado cuando se mezclan con los compuestos diazoados, pero no con la histamina sola. La prueba de que la precipitina sola se combina específicamente con la porción histamínica del compuesto se puede obtener mezclando la histamina con el suero y, después de un período adecuado de incubación, añadiendo el antígeno más complejo. La incapacidad para formar un precipitado en tales condiciones indica que la histamina se ha combinado con el anticuerpo específico durante la primera incubación, de ahí la no formación de precipitado con el antígeno completo. El método se puede ilustrar por el protocolo de un experimento de este tipo (Fell, Rodney y Marshall, 1943). En los experimentos de estos autores los anticuerpos preparados por inmunización de conejos con un compuesto histaminaazoseroglobulina de caballo producían un precipitado cuando se mezclaban con el antígeno complejo. La reacción, sin embargo, no ocurría si se añadía el mismo antígeno al suero que había sido incubado durante 1 hora con 20 mg de clorhidrato de histamina. La incubación primaria con la misma cantidad de paraaminobenzoilhistamina, clorhidrato de tiramina o clorhidrato de histidina no evitaba la formación del precipitado cuando se añadía más tarde el compuesto histamínico diazoado, indicando que el anticuerpo tenía la propiedad de combinarse solamente con la histamina misma.

Las diversas pruebas de floculación usadas en el diagnóstico de la sífilis se pueden clasificar como reacciones de precipitación modificadas, aunque, en otro sentido, se podrían considerar con mayor propiedad como pruebas de aglutinación. Como las espiroquetas causantes de la sífilis no se pueden cultivar, las reacciones serológicas para esta enfermedad se practican con antígenos no específicos, utilizando diversos tipos de extractos de corazón de buey que se tratan en diferentes formas para hacerlos más sensibles a la floculación. A causa de la naturaleza no específica del antígeno usado tanto en las reacciones de fijación del complemento como en las de floculación para diagnóstico serológico de la sífilis, serán estudiadas al final de este capítulo.

REACCION DE AGLUTINACION

De todas las técnicas serológicas utilizadas en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas, la reacción de aglutinación es la más sencilla de practicar y la más ampliamente utilizada. En principio, la prueba consiste en disponer una serie de tubos conteniendo diluciones progresivamente crecientes de suero y añadir a cada tubo una suspensión en solución salina de bacterias vivas o muertas. Después de un período apropiado de incubación se examinan los tubos para demostrar un conglomerado visible; el título se expresa según la mayor dilución de suero que produce aglutinación de los organismos. Los detalles de la técnica se describen en la sección de métodos inmunológicos.

El proceso de la aglutinación se puede seguir al microscopio mezclando un asa de suspensión bacteriana en un asa del antisuero homólogo diluído y observando el agrupamiento de los organismos en gota pendiente (fig. 29). La técnica de aglutinación microscópica en *gota* es extremadamente rápida y útil para la identificación preliminar de cultivos desarrollados en medios sólidos. Se coloca una gota de suero específico inmune diluído sobre un portaobjetos; se separan algunos or-

ganismos de una colonia sospechosa tocándola con un asa y se prepara la suspensión directamente en la gota de suero. La aglutinación tiene lugar inmediatamente si los organismos contienen antígenos homólogos con los anticuerpos del suero. La mezcla seca rápidamente, y aunque por esta técnica no se puede titular el contenido en anticuerpos, es útil como método rápido de eliminar colonias cuando se intenta escoger organismos de tipo antigénico particular.

Si bien la técnica de titulación de aglutininas es relativamente simple, la interpretación a veces es algo difícil por la complejidad de estructura antigénica de las bacterias y por las reacciones cruzadas que con frecuencia se producen.

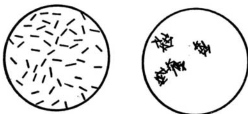


Fig. 29. Dibujo de una aglutinación microscópica.

En el laboratorio clínico, la reacción de aglutinación sirve para dos propósitos netamente diferentes. En un tipo de prueba se añade una suspensión de organismos conocidos a diluciones variables de suero del paciente; el título indica la respuesta del paciente a su infección en anticuerpos. Interpretados con propiedad, los resultados de tales pruebas son de gran valor en el diagnóstico de infecciones obscuras de larga duración. Se debe subrayar, sin embargo, que el título de aglutininas en tales casos sólo debe considerarse como un dato clínico accesorio, ya que los anticuerpos pueden haber persistido de una infección previa o resultar de inmunización. Una prueba de este tipo, empleando suero del paciente y suspensión de bacilos tíficos muertos por el calor, fué descrita por Widal (1896) como auxiliar en el diagnóstico de la fiebre tifoide y usualmente se denomina *reacción de Widal*. La práctica común de probar el suero del paciente con diversos antígenos, tales como diferentes tipos de *Salmonella*, hace que se aplique ampliamente el término reacción de Widal para indicar el ensayo en busca de anticuerpos para otros organismos, además de los bacilos tíficos.

Un segundo tipo de reacción de aglutinación es aquella en la cual se confirma la identificación de un organismo aislado de un paciente, demostrando que es aglutinado a título suficiente por un suero de conejo que se sabe contiene anticuerpos específicos para dicho organismo. Así, por ejemplo, numerosas especies de *Salmonella* que morfológica y fisiológicamente no pueden distinguirse entre sí, se identifican específicamente según su composición antigénica por las reacciones de aglutinación con sueros específicos de conejo.

Factores que afectan la reacción de aglutinación. La aglutinación, como la precipitación, no ocurre en ausencia de electrólitos; la aglutinación máxima tiene lugar cuando existe una concentración óptima de sal (Duncan, 1937). En el laboratorio, las diluciones del antisuero y de las suspensiones bacterianas suelen prepararse

en solución ClNa al 0,9 por ciento. Northrop y de Kruif (1922) demostraron que la sal disminuía la diferencia de potencial entre las células bacterianas y el medio que las rodea, así como la fuerza cohesiva entre las células. La aglutinación ocurría cuando el potencial resultaba inferior a un valor crítico de 15 milivoltios, pero en soluciones salinas concentradas la disminución de la fuerza cohesiva era suficiente para evitar la aglutinación aun cuando la diferencia de potencial se redujera a un valor no medible.

La aglutinación también se afecta por la concentración de hidrogeniones. Cuando se ensayan sueros de título bajo a niveles bajos de pH, es frecuente que ocurra una aglutinación no específica o *aglutinación ácida.* Sin embargo, con sueros de título alto, el pH tiene poca acción sobre el título de aglutininas.

Como la aglutinación resulta de la colisión y la adhesión simultáneas de las bacterias sensibilizadas, la reacción tiene lugar con mayor rapidez en condiciones que aumenten el número de contactos entre las células bacterianas. Tal aglutinación ocurre más rápidamente a mayor temperatura. En la mayor parte de los laboratorios se colocan los tubos en baños a 37° C. durante varias horas antes de examinarlos para observar la formación de grumos. Algunos investigadores prefieren, sin embargo, el baño a 59° C.; temperaturas de 56° C. o más altas tienen efecto destructor sobre el anticuerpo. Si se emplea la técnica del baño de María, el nivel del agua del baño se debe mantener algo bajo para facilitar la evaporación de los tubos, condición que favorece la formación de corrientes de convección en las mezclas y aumenta el número de contactos bacterianos.

El tiempo óptimo de incubación debe determinarse empíricamente, puesto que varía con cierto número de factores, incluyendo el tipo de bacteria empleada como antígeno. En muchos laboratorios se suele incubar los tubos por varias horas y, después de una lectura preliminar, se colocan en la nevera durante la noche, para volverlos a examinar a la mañana siguiente. En ese método los tubos han de manejarse con cuidado para evitar que sean agitados; se leen examinando el líquido que sobrenada. La mezcla testigo, sin embargo, suele permanecer suspendida y el líquido queda turbio. Esta técnica tiene la ventaja de que los resultados se pueden dar indicando el título que produce la aglutinación completa y el título que solamente origina aglutinación parcial.

La técnica de aglutinación que emplea la centrifugación de la mezcla suero-antígeno vuelve a emplearse y probablemente se utilizará con mayor amplitud en el futuro. El método tiene la ventaja de la rapidez, pues la sensibilización de las células bacterianas se produce a medida que los organismos son literalmente obligados a atravesar la solución de anticuerpo por la fuerza centrífuga aplicada. El procedimiento, aunque rápido, debe vigilarse cuidadosamente en cuanto a los factores tiempo, velocidad de centrifugación y preparación de las suspensiones bacterianas. Con esta técnica Mayer y Dowling (1945) pudieron obtener buenos títulos de aglutinación en pacientes con infecciones meningocócicas, enfermedad en la cual los títulos obtenidos por los procedimientos usuales de aglutinación son mínimos y carecen de valor.

En la titulación de aglutininas tiene gran significación práctica el fenómeno de inhibición en la zona de exceso de anticuerpo. Esta región de inhibición, conocida como *zona proaglutinoide*, es importante, porque las reacciones pueden darse por negativas, si el examen buscando grumos se limita solamente a los primeros tubos de la serie. Aunque se han propuesto varias teorías, no hay explicación satisfactoria de este fenómeno. Ocurre con mayor frecuencia trabajando con determinadas suspensiones de antígenos como *Brucella* y *Past. tularensis.* El fenómeno es variable: ciertos sueros parecen ejercer acción inhibidora mayor que otros. Se cree que la fracción

albúmina del suero interfiere en la reacción entre el antígeno y la globulina anticuerpo, ya por la absorción no específica de la albúmina sobre la célula, lo cual bloquea su sensibilización por el anticuerpo, o inhibiendo la segunda etapa de la aglutinación por absorción secundaria sobre la superficie de las células sensibilizadas, impidiendo su agregación. El problema ha sido revisado por Hayes (1947) quien describió un nuevo tipo de prozona que aparece cuando la suspensión bacteriana se calienta antes de añadirla a las diluciones de suero no calentadas.

Análisis antigénico por aglutinación. Las bacterias se componen de múltiples antígenos situados en su interior o en la superficie de los cuerpos bacterianos (antígenos somáticos), así como de estructuras especiales como flagelos y cápsulas. En consecuencia, los sueros de los animales inmunizados con los microorganismos íntegros, o el de los pacientes infectados por una bacteria particular, contendrían anticuerpos formados específicamente contra cada uno de los antígenos del organismo bacteriano. Las bacterias pueden ser completamente diferentes en sus caracteres morfológicos y fisiológicos, poseer diferentes propiedades patógenas y, no obstante, tener antígeno en común. Por ejemplo, el polisacárido capsular del bacilo de Friedländer de tipo B (bacilo gramnegativo) es similar antigénicamente al del neumococo de tipo II (diplococo grampositivo).

La posesión de antígenos comunes a varios organismos da lugar al fenómeno denominado *aglutinación cruzada,* en el cual los sueros de animales o personas inmunizados o infectados con una bacteria determinada no solamente aglutinarán una suspensión del organismo correspondiente, sino también suspensiones de otras bacterias. En la mayor parte de los casos, la aglutinación cruzada no influye en la interpretación de los datos serológicos obtenidos corrientemente en el laboratorio, porque los títulos correspondientes a los organismos homólogos suelen ser mucho más altos que los obtenidos con organismos heterólogos. En la brucelosis, por ejemplo, las reacciones cruzadas entre diversas especies son muy netas y las reacciones cruzadas entre *Brucella* y *Past. tularensis* se dice que son comunes. Sin embargo, raramente hemos observado una aglutinación cruzada manifiesta, y en tales casos no se podía excluir la infección previa con uno de los organismos.

Los análisis antigénicos son de uso corriente para determinar las especies de *Salmonella, Shigella* y otros organismos. Para el diagnóstico y la terapéutica de tales infecciones, la clasificación de estos organismos no es vital, pero el método tiene enorme importancia en epidemiología, puesto que permite determinar el origen de una epidemia, y en muchos casos descubrir al portador causante.

Los resultados más fructíferos de investigaciones antigénicas se han logrado con los numerosos estudios de organismos utilizados para la producción de vacunas. Un ejemplo excelente de ello es el de la producción de vacuna tífica. La potencia inmunológica de las vacunas tíficas solía valorarse por titulación de aglutininas en los sueros de individuos que habían recibido inyecciones de vacuna. Tales titulaciones solían efectuarse exclusivamente utilizando como antígeno suspensiones de bacilos flagelados muertos por el calor. Sin embargo, después que Weil y Felix (1917) demostraron que los antígenos somáticos o antígenos "O" del bacilo *Proteus* eran diferentes de los antígenos flagelares o antígenos "H", llegó a ser práctica habitual en muchos laboratorios llevar a cabo las aglutinaciones H y O con los sueros de pacientes sospechosos de tener fiebre tifoidea. El título anti-H se obtenía por la técnica usual, empleando bacilos flagelados muertos por el calor. El título anti-O del suero se determinaba usando como antígeno organismos que habían perdido sus flagelos por adición de un volumen igual de alcohol absoluto a una suspensión espesa de bacilos flagelados e incubación a 37° C. por 24 a 36 horas.

Una comparación de los dos tipos de aglutinación demostró que el antígeno O era menos específico que el antígeno H y que el título de aglutininas anti-O solía ser más bajo que el título anti-H. Más importante todavía fué la observación de que en la fiebre tifoidea activa ambos títulos, el anti-O y el anti-H, eran altos, mientras que en el suero de las personas inmunizadas con vacuna tífica, el título anti-O rara vez alcanzaba alto nivel aunque la respuesta de la aglutinina anti-H pareciera ser satisfactoria. Estos resultados sugirieron que debería ser útil determinar en el laboratorio el tipo de aglutinina para distinguir entre los anticuerpos formados como resultado de la infección y los formados en respuesta a la inmunización artificial.



Fig. 30. Aglutinación H de S. typhosa observada en campo obscuro.

(Según Pijper, *J. Path. & Bact.*, 1938, 47:1.)

Si bien tal diferencia podía ser valiosa en clínica, surgieron hechos perturbadores, particularmente el creciente número de casos de fiebre tifoidea que se presentaban en individuos previamente inmunizados. Como la fiebre tifoidea raramente se sufre por segunda vez es lógico suponer que los anticuerpos formados como resultado de la primera infección tienen efecto protector máximo. Los títulos anti-O relativamente bajos, obtenidos después de la inmunización artificial y la presentación ocasional de fiebre tifoidea en individuos que habían recibido vacuna tífica, hicieron pensar en una deficiencia de antígenos importantes en el material de la vacuna.

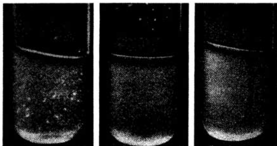


Fig. 31. Reacción de aglutinación macroscópica.

1. Floculación grosera (tipo (H). *2.* Floculación fina (tipo O). *3.* Testigo, suspensión homogénea de bacterias en solución salina.

Grinnell, en una serie de estudios (1930, 1931, 1932), ideó una técnica para estimar la virulencia de las diferentes cepas de bacilos tíficos por inyección intraperitoneal de ratones. Estudió el valor inmunizante de cierto número de vacunas

antitíficas del comercio y comprobó que el valor inmunizante de la mayor parte de ellas era extremadamente bajo si se probaba inyectando los animales vacunados con organismos virulentos. Sin embargo, las vacunas preparadas con cepas recién aisladas del organismo humano proporcionaban sólida inmunidad en estas pruebas en animales.



Fig. 32. Primera etapa de aglutinación O de S. typhosa en campo obscuro.

(Según Pijper, *J. Path. & Bact.*, 1938, 37:1.)

Desde la introducción del método de ensayo de protección para el ratón se ha empleado como medida de la potencia inmunizante de tales vacunas. La significación de otros antígenos, como el "Vi" del bacilo tífico, será tratada en el capítulo sobre fiebre tifoidea. Lo dicho acerca de los antígenos H y O es el propósito de ilustrar que los análisis antigénicos tienen algo más que un interés académico. Además, ello subraya que las células del organismo son incapaces de distinguir entre antígenos importantes y los no esenciales, como se demuestra por la excelente respuesta de anticuerpos a los antígenos de los flagelos de los bacilos tíficos. Tales anticuerpos no tienen influencia significativa sobre el curso de la enfermedad.

Pijper, usando la cinematografía en campo obscuro, ha estudiado las diferencias en la aglutinación de los bacilos tíficos por anticuerpos anti-O y anti-H.* En estos estudios, Pijper empleó bacilos tíficos móviles vivos. Observó que la adición de suero anti-H, obtenido por inmunización con bacilos íntegros, primero disimula la motilidad; los flagelos, fácilmente observados en el campo obscuro, se hicieron gruesos y rígidos. Conforme estos organismos no móviles llegaban en contacto unos con otros por colisión accidental, se adherían y los grumos de organismos se formaban lentamente. Los flagelos rígidos engrosados se entrelazaban y los grumos eran grandes y laxos (fig. 30). En las pruebas de aglutinación macroscópica los grandes grumos con frecuencia se asemejan a *copos de nieve* y se indican como tipo "H" de aglutinación (fig. 31).

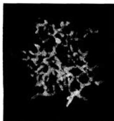


Fig. 33. Etapa tardía de aglutinación O de S. typhosa observada en campo obscuro.

(Según Pijper, *J. Path. & Bact.*, 1933, 47:1.)

Cuando se añade a una suspensión de bacilos tíficos móviles el suero anti-O (preparado inoculando a un animal bacilos tratados con alcohol), los organismos, con su motilidad inalterada, se dirigen literalmente por sí mismos unos contra otros. Las colisiones son mucho más espectaculares que las observadas en el tipo H de aglutinación; las preparaciones en campo obscuro muestran a los bacilos que se mueven con enormes velocidades, clavándose literalmente en los grupos en rápida formación. de los cuales nunca emergen. Los grumos

* Esta película, que puede obtenerse del Dr. H. E. Morton en la Universidad de Pensilvania, se recomienda grandemente a los interesados en el proceso de la aglutinación.

formados por este tipo de aglutinación son compactos, puesto que la cohesión es entre las superficies de los cuerpos bacterianos (figs. 32, 33). Macroscópicamente, el tipo "O" de aglutinación semejan pequeños granizos (fig. 31) más que copos de nieve.

En la aglutinación Vi también se paralizan los flagelos y los bacilos aglutinan por contacto químico. Es característico de este tipo de aglutinación que las células bacterianas tiendan a adherirse en filas paralelas (como puede verse en la figura 34).

Absorción de aglutininas. Los análisis antigénicos suelen llevarse a cabo por técnicas de absorción de aglutininas, basadas en el principio general de que se forman anticuerpos específicos separados en respuesta a cada uno de los tipos de antígeno del bacilo. Así, una bacteria "X" puede estar compuesta por los antígenos hipotéticos A, B, C y D; un animal inyectado con tal organismo deberá responder con los anticuerpos correspondientes a, b, c y d. Cada uno de los anticuerpos es capaz de aglutinar al organismo si el antígeno correspondiente se halla en la superficie de la bacteria y por tanto en posición para combinarse con el anticuerpo.



FIG. 34. AGLUTINACIÓN VI DE S. TYPHOSA OBSERVADA EN CAMPO OBSCURO.

(Según Pijper, *J. Path. & Bact.*, 1941, 53:431.)

El fenómeno de la aglutinación cruzada se puede ilustrar suponiendo otra bacteria "Y", compuesta de los antígenos A, E, F y G; así, pues, el suero anti-Y contendrá los anticuerpos correspondientes a, e, f y g. A causa del antígeno común A presente en ambos organismos X e Y, el suero anti-X aglutinará no solamente la suspensión de bacilos X, sino que por su contenido de "a" ejercerá cierta aglutinación del bacilo Y; de manera similar, un suero anti-Y no solamente aglutinará la bacteria Y a título completo, sino que también aglutinará una suspensión del bacilo X. El título del suero contra el organismo heterólogo será mucho más bajo que contra la bacteria homóloga, ya que el único anticuerpo, origen de la aglutinación cruzada, se elimina muy pronto.

La prueba de la explicación anterior hállase en los resultados obtenidos por los experimentos de *absorción de aglutininas*. Con esta técnica un antígeno puede ser absorbido hasta el punto que aglutine solamente el organismo homólogo. El método consiste en mezclar suspensiones espesas de los organismos homólogos con el suero a absorber, incubando por un tiempo suficiente y separando después los organismos de la mezcla por centrifugación, con lo cual se dejan los anticuerpos no absorbidos en el líquido superpuesto. Así, si un suero anti-X que contiene a, b, c y d se mezcla con bacilos Y, compuestos de A, E, F y G, el anticuerpo "a" habrá de ser absorbido sobre la superficie del bacilo Y y, después de la centrifugación, quedarán solamente en el líquido que sobrenade los anticuerpos b, c y d. Este suero absorbido, que contiene b, c y d, sólo podrá aglutinar el bacilo X.

Tal técnica de absorción por aglutinación se usa ampliamente en la determinación de especies de *Salmonella;* los tipos antigénicos han sido determinados de manera tan completa que el organismo problema puede ser identificado por sus reacciones en diversos sueros absorbidos para descubrir antígenos específicos.

Debe señalarse que las concentraciones adecuadas de suspensiones bacterianas y de suero empleadas en la absorción de diversos sueros debe determinarse empíri-

camente. Si bien se debe suponer que los diversos antígenos de una bacteria se presentan en proporciones diferentes, no hay razón para creer que los distintos anticuerpos en el suero correspondiente se encuentran exactamente en la misma proporción, puesto que algunos de los antígenos pueden tener un mayor poder de incitar la producción de anticuerpos que otros.

Aunque el fenómeno de la aglutinación cruzada puede ser considerado como una desventaja para el laboratorio clínico, por la confusión que ocasionalmente causa la aglutinación de organismos heterólogos, es importante observar que algunas reacciones de aglutinación cruzada son de gran utilidad. Así, por ejemplo, la reacción de *Weil-Felix* o aglutinación del *Proteus OX19* por los sueros de pacientes con rickettsiasis, tifus exantemático y fiebre de las Montañas Rocosas, es una de las pruebas más importantes efectuadas corrientemente en los laboratorios de diagnóstico. Si bien se pueden obtener reacciones serológicas más específicas por el uso de pruebas de fijación del complemento empleando *Rickettsia* desarrolladas en embrión de pollo, este método no es tan útil para el laboratorio de un hospital como la aglutinación directa del bacilo *Proteus*.

Aglutininas normales. El problema de la existencia de *aglutininas normales* en los sueros de pacientes está por resolver. Según algunos autores, los anticuerpos de bajo título que pueden encontrarse en los sueros de animales e individuos normales, para diversos microorganismos, en realidad son anticuerpos no específicos. Aunque nosotros no nos encontramos en situación de aceptar o negar esta hipótesis, nos parece más plausible que tales anticuerpos sean verdaderos anticuerpos específicos, formados en respuesta a la estimulación por contacto con los antígenos en circunstancias de infección subclínica, y aun en condiciones normales.

La variada flora bacteriana de la nasofaringe, del colon y de otras partes del organismo normal deben de proporcionar oportunidades para la introducción de antígenos en el cuerpo; la existencia de moldes antigénicos en microorganismos de tipos muy diferentes puede ser también importante para estimular la producción de aglutininas normales. Desgraciadamente, los títulos de tales anticuerpos en los sueros humanos son tan bajos que los estudios de absorción no se pueden llevar a cabo de manera tan completa como sería de desear.

FIJACION DEL COMPLEMENTO

La prueba de fijación del complemento, aunque técnicamente más difícil que la aglutinación o precipitación, es una reacción serológica muy útil porque permite mayor variabilidad en lo que se refiere al estado físico del antígeno. La titulación se puede llevar a cabo con el antígeno en estado soluble o en suspensión; como los resultados se leen por observación de una reacción secundaria, presencia o ausencia de hemólisis, la prueba se puede efectuar con antígenos turbios o en suspensión en grumos irregulares. Sin embargo, otros factores pueden excluir la fijación del complemento como técnica para la determinación de anticuerpo con ciertos antígenos. Algunos antígenos son impropios por sus propiedades hemolíticas o anticomplementarias; es necesario disponer testigos adecuados para descubrir estas propiedades. La reacción de fijación del complemento como prueba para anticuerpos ha resultado de gran valor en muchas infecciones causadas por virus, bacterias, hongos y rickettsias.

La reacción de fijación del complemento se basa en el uso de complemento o alexina, substancia biológica presente en los sueros de animales normales que tiene la gran

ventaja de no ser específica. La prueba será descrita después de tratar de la substancia complemento y del sistema hemolítico.

Complemento. Entre 1886 y 1888 varios investigadores (von Fodor, Nuttall y otros) observaron que la sangre de animales normales gozaba del poder de matar ciertas bacterias patógenas. Nuttall demostró que la acción bactericida del suero recién extraído podía ser destruída por calentamiento a 56° C. durante media hora: Buchner (1889) dió el nombre de *alexina* a esta substancia termolábil supuesta responsable de la muerte de las bacterias.

Pfeiffer e Issaeff (1894) aportaron información adicional sobre el mecanismo de destrucción de bacterias por los líquidos orgánicos; demostraron que la inyección intraperitoneal de vibriones del cólera en cobayos inmunes a esta enfermedad ocasionaba la muerte y lisis de los organismos. También demostraron que si se inyectaban intraperitonealmente sueros inmunes junto con organismos del cólera en cobayos normales, los vibriones coléricos eran destruídos y lisados. Este tipo de lisis del vibrión colérico ha sido denominado *fenómeno de Pfeiffer.* Otros experimentos (Metchnikoff, 1889, 1891 1895; Bordet, 1895, 1898, 1899) revelaron que ocurría el mismo fenómeno *in vitro,* si bien los resultados eran menos espectaculares. Posteriormente se comprobó que un suero inmune perdía su poder de disolver los organismos si era calentado o si se dejaba envejecer, pero la acción bacteriolítica podía ser restaurada por adición de pequeñas cantidades de suero fresco de animales normales.

De esta observación Bordet sacó la conclusión de que eran necesarias dos substancias para producir el fenómeno de la muerte y lisis de las bacterias: 1) una termoestable, presente en el suero de los animales inmunizados, y 2) un elemento termolábil, presente en los sueros de los animales normales. La substancia termoestable, que Bordet denominó *substancia sensibilizante,* se sabe hoy que es idéntica al anticuerpo sensibilizante; éste, según la hipótesis unitaria, es el mismo anticuerpo que sensibiliza las bacterias haciéndolas susceptibles a la aglutinación por los electrólitos. La alexina, sin embargo, no es un anticuerpo, porque no es específica en su acción; se encuentra en el suero de los animales normales, no aumenta después de la inmunización y se destruye fácilmente por calentamiento a temperaturas que no tienen efecto deletéreo sobre el anticuerpo sensibilizante específico. El término *complemento,* usado casi universalmente en la actualidad, designa esta substancia termolábil es sinónimo de alexina.

En los últimos años se han logrado grandes adelantos en el conocimiento de la química del complemento como resultado de las técnicas perfeccionadas para estudio de las proteínas. Desde hace muchos años se reconoció que el complemento podía ser fraccionado en dos componentes termolábiles —la *pieza media* que puede separarse por la precipitación, por tratamiento con ClH diluído, con CO_2 o por separación de las sales por diálisis; y la *pieza distal* que permanece en solución bajo los mismos tratamientos. Posteriormente fueron descritas dos substancias termoestables, una sensible a las células de levadura y la otra destruída por el tratamiento con amoníaco. En la literatura moderna suelen designarse estos cuatro componentes como C_1, C_2, C_3 y C_4, en donde C_1 es la pieza media o fracción insoluble con CO_2; C_2 la pieza distal o fracción soluble con CO_2; C_3 el tercer componente que es sensible a la acción de la levadura, y C_4 el cuarto componente, que es destruído por el amoníaco. La química de estos diversos componentes y el papel de cada fracción en las reacciones antígeno-anticuerpo están siendo estudiados en diferentes laboratorios. La revisión de Pillemer (1943) ha resumido el progreso hecho en este problema hasta hoy.

No hay duda de que nuevos estudios de las actividades de los distintos componentes del complemento resultarán en un mejor entendimiento de las reacciones de inmunidad, particularmente aquellas que ocurren en el organismo animal y que deben jugar parte importante en la destrucción y lisis de las bacterias. Hay también muchas diferencias entre el complemento obtenido de diferentes especies animales; estas diferencias se reflejan en algunas de las pruebas serológicas. Sin embargo, para mayor claridad al exponer la reacción de fijación del complemento, éste es considerado como si fuera una sola substancia.

El complemento solamente entra en combinación con un complejo antígeno-anticuerpo; no se produce reacción entre complemento y antígeno ni entre complemento y anticuerpo. En este sentido, la reacción puede considerarse análoga a los fenómenos de aglutinación y precipitación ya que los complejos antígeno específico-anticuerpo específico son afectados en forma no específica por los electrólitos. Así, por ejemplo, si una mezcla de bacterias y complemento se incuba y las bacterias se separan por centrifugación, el complemento permanece inalterado en el líquido que sobrenada. Pero si las bacterias se mezclan con el anticuerpo específico, éste no puede encontrarse en el líquido después de la centrifugación. Si ambos, complemento y anticuerpo sensibilizante, se mezclan con las bacterias, ni uno ni otro pueden ser recuperados después de separar las bacterias.

Es la falta de especificidad del complemento la que lo hace un reactivo de tal valor en las investigaciones serológicas, porque puede entrar casi en cualquier combinación antígeno-anticuerpo.

Este principio se aplica para disponer la prueba de fijación del complemento, basada en el hecho de que a menos que el complemento sea fijado por el sistema particular antígeno-anticuerpo, permanece libre para entrar en una combinación antígeno-anticuerpo enteramente diferente.

Fijación del complemento. La técnica de fijación del complemento comprende dos reacciones distintas. El primer sistema consiste en una mezcla del antígeno, complemento y el suero del paciente sospechoso de contener el anticuerpo específico para aquel antígeno. Después de un período de inoculación adecuado se ensaya la mezcla para comprobar la presencia o ausencia de complemento libre. Se le añaden glóbulos rojos sensibilizados, que se lisan fácilmente por el complemento. El último sistema se denomina sistema hemolítico; como sirve de indicador para descubrir el complemento libre será descrito primero.

Sistema hemolítico. Los glóbulos rojos de los animales, así como las bacterias, son antigénicos; estimulan la producción de anticuerpos sensibilizantes específicos cuando se inyectan intravenosamente suspensiones de glóbulos lavados a animales de diferentes especies. El anticuerpo antiglóbulos rojos se denomina a veces *amboceptor*, por el concepto de Ehrlich, según el cual la unión del complemento y el antígeno se verificaba por medio de un *Zwischenkorper* (cuerpo intermedio). La mayoría de los investigadores se refieren. sin embargo. al anticuerpo antiglóbulos rojos como *hemolisina*, para distinguirlo de los anticuerpos antibacterianos ordinarios usados en la primera fase de la reacción de fijación del complemento. El último nombre es también algo confuso porque el anticuerpo sólo hemoliza los glóbulos rojos en presencia de complemento. La hemolisina no es diferente de otros anticuerpos sensibilizantes; aglutina los glóbulos rojos homólogos cuando se añade a la suspensión de éstos anticuerpos suficientes. La hemolisina suele producirse en conejos, es relativamente estable y, si se mantiene estéril, puede conservarse durante años en la nevera sin cambiar de título. La glicerina se usa generalmente como conservador.

Aunque los glóbulos rojos de la mayor parte de los animales, incluyendo al hombre, se pueden usar como antígeno en el sistema hemolítico, casi exclusivamente se emplean los de carnero en la mayor parte de laboratorios. Los glóbulos rojos de carnero no se hemolizan tan fácilmente por la conservación y se pueden guardar durante un mes o más si se recogen directamente en solución de Alsever (Alsever y Ainslie, 1941). Tales glóbulos rojos son suficientemente frágiles para destruirse con facilidad por influencia del anticuerpo y el complemento. Los glóbulos rojos, usados tanto para la inmunización como para la prueba, son lavados repetidamente con solución salina tamponada para separar las proteínas del suero. Como el complemento es relativamente inestable, se sangra a los cobayos con frecuencia y los sueros recogidos deben titularse inmediatamente antes de emplearlos en la reacción. El complemento liofilizado, que se puede obtener del comercio, es estable y tiene la ventaja evidente de que el suero desecado se puede disolver en la mitad del volumen original. El suero mezclado de muchos animales se puede usar como substituto del complemento de cobayo, pero este animal parece poseer esta substancia en título más alto, probablemente por su contenido relativamente alto de cada uno de los cuatro componentes. En ciertos sistemas antígeno-anticuerpo, el complemento de cobayo no se fija y se requiere el complemento de otros animales. Así, por ejemplo, los anticuerpos humanos y equinos no fijarán el complemento de cobayo con el material polisacárido del neumococo, mientras que los anticuerpos de conejo y cobayo fijarán el complemento de cobayo con el mismo antígeno (Horsfall y Goodner, 1936). Los anticuerpos humanos, sin embargo, fijarán el complemento humano con el material capsular, pero los anticuerpos de caballo no fijarán el complemento humano con la misma substancia (Heidelberger y Mayer, 1942). Las razones para tales discrepancias no están claras por el momento, pero los estudios de química de los diversos componentes en los diferentes sueros y en las diferentes combinaciones antígeno-anticuerpo probablemente darán la solución del problema.

Si bien las relaciones específicas y el acoplamiento de los diversos reactivos en el sistema hemolítico no son conocidos, la reacción de fijación del complemento puede explicarse fácilmente por una representación esquemática. La reacción hemolítica se presenta, según este esquema, en la figura 35.

El esquema muestra que la lisis sólo ocurre cuando anticuerpo y complemento están presentes en la mezcla. Así, pues, la suspensión de glóbulos rojos sensibilizados se puede considerar como un indicador para descubrir la presencia o ausencia de complemento libre; en esta forma se usa en pruebas de fijación del complemento.

Titulación del complemento. La unidad de complemento suele definirse como la menor cantidad que causa la lisis completa de una suspensión establecida de glóbulos rojos sensibilizados, en condiciones determinadas de tiempo y temperatura. Como la lisis depende de la acción mutua del complemento y de la hemolisina, ambos reactivos deben ser valorados, pero el procedimiento aceptado es mantener constante la cantidad de hemolisina, más estable, y hacer variar la cantidad de suero de cobayo. La cantidad de hemolisina debe determinarse previamente por pruebas con diluciones variables de complemento.

En el procedimiento usual se mezcla uniformemente una suspensión al 2 por ciento de glóbulos de carnero lavados con la cantidad establecida de hemolisina y se deja permanecer a la temperatura de la habitación por 10 a 30 minutos. A porciones alícuotas de estos glóbulos sensibilizados se les añaden diluciones crecientes de complemento; las mezclas se ponen en baño de María a 37° C. durante 30 minutos. La mayor dilución de complemento que produce hemólisis completa se admite que contiene una unidad.

Aunque la unidad descrita puede ser determinada fácilmente y sin necesidad de equipo especial, deja mucho que desear, especialmente en la técnica cuantitativa de fijación del complemento. El defecto principal estriba en la dificultad de obtener un punto final exacto. Kolmer (1944), por ejemplo, en su técnica de titulación del complemento, describe la unidad como la contenida en la menor cantidad de complemento que produce *hemólisis brillante* de los glóbulos rojos sensibilizados, pero designa como *unidad completa* la cantidad de complemento contenida en la dilución inmediatamente inferior. Este autor recomienda el uso de dos unidades completas en las pruebas serológicas habituales. El uso de dos unidades completas, en vez de dos unidades comunes, constituye ciertamente una técnica más conservadora, porque el pequeño aumento de la cantidad del complemento empleada en el primer tiempo de la prueba hace menos probable obtener una reacción positiva falsa, pero también hace la prueba algo menos sensible.

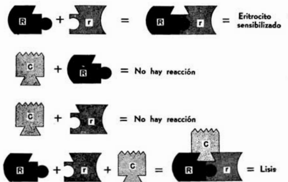


Fig. 35. Representación esquemática del sistema hemolítico.

R, glóbulos rojos de carnero; *r*, anticuerpos antiglóbulos rojos de carnero o hemolisina; *C*, complemento.

En los últimos años algunos laboratorios han empleado como unidad de complemento la cantidad que lisa exactamente el 50 por ciento de los glóbulos rojos sensibilizados. Se determina por medio de un espectrofotómetro el porcentaje de hemólisis producida por diversas cantidades de complemento. Si los porcentajes de hemólisis se representan como ordenadas contra la cantidad de complemento añadida, en abscisas, se obtiene una curva sigmoide que se aplana en ambos extremos y se eleva fuertemente en la parte media. Alrededor del punto del 50 por ciento de hemólisis, pequeñas alteraciones en la concentración del complemento causan diferencias en el porcentaje de glóbulos rojos hemolizados. En ambos extremos de la curva ocurre a la inversa. Por lo tanto, cabe determinar con gran precisión la cantidad de complemento que produce la lisis de la mitad de los glóbulos. En la prueba de fijación del complemento se usan tres de estas unidades del 50 por ciento.

La determinación de la unidad 50 por ciento requiere aparatos costosos, gran cuidado en la preparación de la suspensión y en la sensibilización de los glóbulos rojos y personal entrenado en la técnica. La técnica detallada del método de titulación se indica en la sección de métodos inmunológicos.

Reacción de fijación del complemento. Esta prueba, ideada por Bordet y Gengou (1901) para la demostración de anticuerpos específicos o sensibilizantes, se basa en el mismo principio descrito para el sistema hemolítico, sólo que se usan bacterias o antígenos solubles. El procedimiento comprende dos reacciones separadas; la primera, que incluye el antígeno específico, el anticuerpo del suero del paciente y el complemento; la segunda es simplemente la adición de glóbulos rojos sensibilizados para comprobar la presencia o ausencia de complemento libre en la mezcla.

El primero y muy importante paso en la prueba es la *inactivación del suero*, necesaria para destruir todo el complemento que pueda haber en él. Esto se logra por calentamiento del suero durante 30 minutos a 56° C., o durante 3 minutos a 63° C. El anticuerpo sensibilizante queda inalterado por este calentamiento.

Después de la inactivación, se añaden el antígeno y el complemento; se agita la mezcla por sacudimiento y se coloca en la nevera o en el baño de María a 37° C., según el tipo de fijación empleado. Son numerosas las variaciones empleadas en la ejecución de esta prueba; las cantidades de cada reactivo y el tiempo y temperatura de fijación varían de un laboratorio a otro. En general, la prueba con fijación durante tres horas en la nevera resulta más sensible que la que emplea la fijación durante 30 minutos en el baño de María a 37° C. La cantidad de complemento comúnmente usada es de dos unidades, determinadas por el método de titulación del punto final, o de tres unidades según el método de titulación del 50 por ciento. Los diversos reactivos y sus modos de unión se representan esquemáticamente en la figura 36. Como se ha dicho a propósito del sistema hemolítico, el complemento sólo entra en combinación con el sistema antígeno-anticuerpo, y al final del primer período de incubación únicamente se fija en la mezcla que contiene antígeno y anticuerpo (suero positivo). El complemento queda libre si el anticuerpo está ausente (suero negativo).

Como la fijación del complemento no es visible, la presencia o ausencia de fijación se determina comprobando si existe complemento, por adición de glóbulos rojos sensibilizados. Después de incubación durante 30 minutos a 37° C., se examinan los tubos para ver si hay hemólisis. La *existencia de hemólisis* indica que *la reacción de fijación del complemento es negativa*, puesto que la presencia de complemento libre al final del primer período de incubación es prueba de que el anticuerpo correspondiente al antígeno empleado en la prueba no existe en el suero original. La *ausencia de hemólisis* indica *reacción positiva*, toda vez que el anticuerpo debe haber estado presente para reaccionar con el antígeno y fijar, al mismo tiempo, el complemento.

En la descripción anterior de la reacción de fijación del complemento se han omitido los testigos para mayor simplicidad y para poner de relieve que la prueba completa incluye dos reacciones inmunológicas. La descripción hecha ignora también la dilución del anticuerpo. En las titulaciones cuantitativas se ensayan varias diluciones del suero; los detalles de la técnica se dan en la sección de métodos inmunológicos. En la práctica deben disponerse numerosos testigos para poder advertir la posible introducción de errores técnicos inevitables. El material de vidrio debe limpiarse perfectamente y quedar libre de los menores indicios de substancias extrañas, como jabón, que influyen en la reacción.

Testigos. Como en la reacción de fijación del complemento intervienen dos substancias lábiles, es decir, glóbulos rojos y complemento, cualquier factor extraño presente en alguno de los otros reactivos afectará los resultados de la prueba.

Control del suero del paciente. Algunos sueros son anticomplementarios, esto es, poseen la propiedad de inactivar el complemento. La causa de esta actividad anticomplementaria es desconocida; se observa más comúnmente en sueros que se han extraído varios días antes de ser ensayados. La presencia de sueros anticomple-

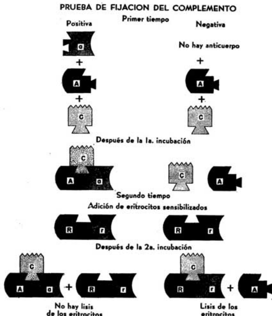


Fig. 36. Representación esquemática de la reacción de fijación del complemento. *A*, antígeno; *a*, anticuerpo; *R*, *r* y *C*, como en la figura 35.

mentarios, al efectuar una serie de reacciones de Wassermann, por ejemplo, es rara, pero ocurre con frecuencia suficiente para que sea necesario incluir *un suero testigo de la actividad anticomplementaria en toda reacción de fijación del complemento.* En dos tubos se ponen cantidades iguales del suero inactivado y se sigue la técnica usual en las gradillas del Wassermann; el tubo duplicado o testigo se coloca en la hilera anterior y el de reacción, conteniendo la misma cantidad de suero, en la

posterior. En algunas reacciones de fijación del complemento se especifica que el testigo contiene doble cantidad de suero que la empleada en la reacción misma.

El *testigo* difiere de los tubos de reacción en que *no se le añade antígeno*. Si el suero no es anticomplementario debe producirse la hemólisis completa al final del segundo período de incubación, independientemente de que haya o no anticuerpos en el suero original. Si no aparece hemólisis en el testigo, ello indica que el suero es anticomplementario, puesto que la ausencia de antígeno en la mezcla excluye la posibilidad de fijación del complemento por mecanismo inmunológico. Cuando en el tubo testigo se obtiene tal reacción debe obtenerse otra muestra de suero del paciente para repetir la prueba; los resultados de la reacción en la mezcla ensayada no se pueden interpretar.

Si en una reacción de Wassermann para la sífilis se prescinde del testigo para poder anticomplementario, los resultados podrían ser altamente equívocos, porque en ausencia de tal testigo, la actividad anticomplementaria habría de interpretarse como reacción positiva.

Testigo de antígeno. El antígeno se prueba para la actividad anticomplementaria por una técnica similar, pero en este caso se usan dobles cantidades de antígeno y las mezclas no contienen anticuerpo. Aunque algunos antígenos son anticomplementarios, los efectos suelen poderse eliminar por dilución. La dosis de antígeno que se ha de utilizar en la reacción no debe ser mayor de una cuarta parte de la cantidad que causa inhibición de la hemólisis.

Algunos antígenos no pueden ser utilizados en la reacción de fijación del complemento a causa de su acción hemolítica. La actividad hemolítica se determina mezclando cantidades dobles del antígeno con glóbulos sensibilizados e incubando a 37° C. En estas condiciones la hemólisis no guarda relación con la actividad del complemento; toda hemólisis causada por el antígeno excluirá el uso de éste, que producirá una falsa reacción negativa aun cuando el suero contenga anticuerpos.

El poder de combinación del antígeno debe determinarse empíricamente probando cierto número de sueros positivos.

Los otros reactivos se comprueban generalmente en la titulación preliminar del complemento.

En el laboratorio serológico es de práctica usual, al efectuar las pruebas de Wassermann, verificar la técnica conservando sueros conocidos, positivos y negativos, e incluyéndolos al efectuar las reacciones del día siguiente.

BACTERIOLISINAS Y BACTERIOCIDINAS

Aquí sólo daremos una breve exposición de estos anticuerpos, puesto que las llamadas bacteriolisinas y bacteriocidinas probablemente son idénticas a los anticuerpos sensibilizantes. En ambas reacciones es necesario complemento para descubrir los efectos de lisis o muerte de las bacterias sensibilizadas. El fenómeno de Pfeiffer de lisis del vibrión del cólera ya ha sido tratado en este capítulo; el mecanismo de la bacteriólisis probablemente es similar, si no idéntico, a la lisis de los glóbulos rojos por el complemento después de la sensibilización por el anticuerpo específico. La bacteriólisis es afectada, en parte al menos, por otros factores de la célula bacteriana misma, posiblemente de naturaleza física. En general, el vibrión del cólera y los bacilos gramnegativos se lisan con facilidad bajo la influencia del complemento y los anticuerpos sensibilizantes. Además, cocos grampositivos sensibilizados específicamente resisten a la lisis y pueden no ser destruídos por el complemento.

La determinación de la acción bactericida de un anticuerpo presenta dificultades técnicas que impiden emplearla sistemáticamente en la medición de anticuerpos. Para demostrar la acción bactericida se requiere un delicado equilibrio entre microorganismos, anticuerpos sensibilizantes y complemento. Como la eficacia de la acción bactericida suele determinarse por métodos de recuento en placa, factores como la aglutinación podrían disminuir el número de colonias incluso en ausencia de todo efecto bactericida. También fueron observadas por los primeros investigadores (Neisser y Wechsberg. 1901) prozonas excesivas.

Si bien las dificultades técnicas impiden utilizar estas pruebas como métodos habituales de laboratorio, resulta alentador para los defensores de la hipótesis unitaria que tales pruebas sean innecesarias. Como el organismo normal contiene complemento, no es aventurado suponer que la demostración de anticuerpos sensibilizantes específicos en el suero de un paciente es prueba suficiente de que están actuando los mecanismos más importantes de muerte y lisis para las bacterias.

FAGOCITOSIS

La fagocitosis es uno de los más interesantes y complejos mecanismos empleados por el organismo en su defensa contra las enfermedades infecciosas. En las secciones precedentes hemos tratado ampliamente de dos substancias: el anticuerpo específico, y el complemento no específico; se trata de productos biológicos creados por el animal, que pueden aislarse de los líquidos orgánicos en forma casi pura y permiten así el estudio directo de sus efectos específicos. La fagocitosis, sin embargo, requiere la acción de células vivas y los estudios correspondientes no son fáciles. Aunque se pueden tomar los leucocitos de la sangre para estudiar sus acciones, debe tenerse en cuenta que los experimentos *in vitro* es necesario llevarlos a cabo en condiciones muy artificiales. Además, la capacidad para digerir agentes extraños, como bacterias, la poseen muchos tipos diferentes de células en el organismo. En este capítulo no cabe tratar los problemas generales de la actividad fagocítica.

La importancia de la fagocitosis como mecanismo de inmunidad fué demostrada por los estudios de Metchnikoff (1901) y sus discípulos, en el Instituto Pasteur. Cuando éstos tenían lugar, los investigadores alemanes, bajo la dirección de Ehrlich, Pfeiffer y otros, estaban más interesados en las relaciones entre inmunidad y anticuerpos del suero. La competencia resultante de las dos vías de ataque del problema por investigadores igualmente brillantes llevó a formular dos teorías de la inmunidad, las llamadas *humoral* y *celular*, respectivamente. Es dudoso que los defensores de una y otra teoría crean en realidad que la inmunidad resulte exclusivamente de uno u otro de los mecanismos, pero hubo grandes diferencias de opinión en cuanto al mecanismo que era más importante. Metchnikoff creyó que la fagocitosis era el factor que regía la inmunidad; incluso sostuvo que el anticuerpo y el complemento derivaban de los leucocitos. Para Pfeiffer y sus colaboradores, anticuerpo y complemento eran los factores para que una infección resultase o no mortal, y la fagocitosis sólo era un mecanismo secundario para eliminar las bacterias después que ya se había decidido el resultado.

La posteridad se benefició de tales discrepancias, porque los puntos en conflicto aportados por investigadores competentes estimuló la competencia en el trabajo. Hoy no hay duda de que ambos mecanismos son importantes para combatir las enfermedades infecciosas. En algunas, sin embargo, el mecanismo celular parece más vital para la recuperación; en otras, ocurre a la inversa.

En gran parte del trabajo efectuado en los albores de la Inmunología se usaron términos como *virulinas* o *agresinas* para designar substancias existentes en las bacterias que tenían el poder de vencer las defensas orgánicas e impedir la fagocitosis por los leucocitos. Tales términos han sido desechados al aumentar los conocimientos relativos a la acción bloqueadora de los haptenos y al reconocimiento de que algunas bacterias producen substancias que son tóxicas para los leucocitos.

Antes de estudiar el papel de los anticuerpos sensibilizantes en la fagocitosis debemos subrayar que otros factores, además de los anticuerpos, son importantes en las infecciones; tales factores, cuando tengan cierta significación, serán tratados en los capítulos pertinentes.

Opsoninas y bacteriotropinas. El término *opsonina* fué propuesto por Wright y Douglas (1903, 1904) para designar una substancia presente en el *suero fresco normal* que actúa sobre las bacterias, de modo que se hacen más sensibles a la fagocitosis. Dichos autores también observaron que el calentamiento del suero a 60° C. por 15 minutos suprimía esta propiedad.

El efecto del calentamiento y la evidencia de que la opsonina actuaba sobre las bacterias y no sobre los leucocitos se puede ilustrar por el protocolo de uno de los experimentos de Wright.*

Mezclas	Promedio del Nº de bacterias por leucocito
Leucocitos lavados + estafilococos	1,2
Leucocitos + suero + estafilococos	20,0
Leucocitos + suero, después lavados y añadidos estafilococos	2,4
Estafilococos + suero, después lavados y añadidos leucocitos	18,4
Leucocitos + suero calentado + estafilococos	4,2

Neufeld y Rimpau (1904, 1905) observaron que el *suero inmune* poseía también la capacidad de actuar sobre las bacterias y hacerlas más susceptibles a la fagocitosis y que tal suero podía ser calentado a 70° C. sin que desapareciese esta acción. A este anticuerpo termoestable estimulante de la fagocitosis le fué aplicado el nombre de *bacteriotropina*.

Actualmente se admite que el anticuerpo que prepara a los organismos para la fagocitosis y que está presente en el suero normal, es idéntico a la bacteriotropina termoestable presente en el suero inmune. Wright y sus colaboradores han empleado estafilococos como antígeno en sus experimentos de fagocitosis; no hay duda que los sueros de individuos normales contienen pequeñas cantidades de anticuerpos específicos para los estafilococos como resultado de infecciones previas con este organismo tan ampliamente distribuído. Además, Cowie y Chapin (1907) demostraron que el poder opsónico del suero normal perdido como resultado de tratamiento por el calor podía ser restaurado por la adición de suero fresco normal diluído hasta el punto que su propio efecto opsónico había desaparecido. Este punto se ilustra por los datos de uno de sus experimentos.**

	Indice fagocítico
Suero no calentado	15,44
Sol. salina	0,18
Suero calentadó a 57° C.	1,08
Suero no calentado (dil. 1/15)	1,56
Suero calentado + suero no calentado (dil. 1/15)	12,40
Suero no calentado + suero diluído (dil. 1/15)	16,08

* Wright, A. E. y Douglas, S. R., *Proc. Roy. Soc.*, Londres, 1903, 72:357.

** Cowie, D. M., y Chapin, W. S., *J. Med. Res.*, 1907, 17:57, 95, 213.

Los datos anteriores demuestran claramente que el calentamiento del suero disminuye el índice fagocítico hasta un nivel apenas superior al observado cuando la suspensión de bacterias se hace en solución salina, y que el suero no calentado, diluído al punto que su actividad opsónica casi es igual a la del suero calentado no diluído, puede restaurar la mayor parte de la actividad opsónica.

Dean, en 1917, demostró que el efecto del anticuerpo inmune termoestable o bacteriotropina podía ser reforzado hasta cierto punto por adición de pequeñas cantidades de suero normal diluído obtenido recientemente.

Era evidente que la función del suero normal diluído era suministrar complemento a la mezcla, y debido a la proporción inversa entre la cantidad de complemento y la de anticuerpo incluída en el complejo antígeno-anticuerpo-complemento, el efecto reforzador del complemento era mucho mayor con las concentraciones bajas de anticuerpo. Ward y Enders (1933) demostraron que el complemento tenía acción aceleradora sobre la fagocitosis. Así, en un experimento con neumococos muertos por el calor, al final de una incubación de dos horas se encontró un promedio de 3 diplococos por leucocito en las mezclas que sólo contenían bacterias y anticuerpo, mientras que el promedio encontrado en las mezclas que contenían bacterias, anticuerpo y complemento era de más de 14 diplococos. Al final de una incubación de ocho horas se encontraron en ambas preparaciones promedios de unos 14 diplococos por leucocito. En este experimento los autores usaron como fuente de complemento suero no calentado diluído al 1/32; el antígeno fué diluído al 1/128. Los autores señalaron que este efecto del complemento no podía demostrarse sin emplear dosis óptimas de antisuero, puesto que una concentración demasiado fuerte de anticuerpo produciría tan rápida fagocitosis que el efecto del complemento pasaría inadvertido.

En el mismo trabajo, Ward y Enders ofrecían pruebas convincentes de que el anticuerpo sensibilizante responsable de la fagocitosis es idéntico al que precipita y mata las bacterias. Su técnica experimental contribuyó indudablemente a dar gran valor a sus resultados; todo el que estudie problemas de fagocitosis debe consultar esta publicación. Los datos siguientes, extraídos de la tabla VII del artículo que comentamos, ilustra la acción bloqueadora del carbohidrato soluble específico para impedir la sensibilización u *opsonización* de las bacterias. Los mejores resultados se obtuvieron con un antisuero de neumococo de tipo II, usado en dilución de 1/32 junto con suero inmune calentado, leucocitos lavados y neumococos de tipo II.

Dilución del antisuero	Concentración de carbohidratos específicos	Núm. de neumococos de tipo II fagocitados por 50 células
1/32	0	414
1/32	Tipo I, 1/800	369
1/32	Tipo II, 1/800	5
1/32	Tipo III, 1/800	413
Sin suero	0	12

De los datos anteriores resulta evidente que el polisacárido soluble específico agregado a la mezcla inhibe la fagocitosis por combinarse con el anticuerpo sensibilizante homólogo e impedir así la sensibilización de los neumococos. Como el anticuerpo no se puede diferenciar del anticuerpo sensibilizante, cabe concluir que la precipitina es idéntica a la opsonina.

Experimentos similares fueron llevados a cabo por los mismos autores para probar el efecto bactericida de la sangre desfibrinada contra los neumococos. Así, 0,5 c.c. de sangre normal de un individuo mataron 70 000 neumococos de tipo I, 40 000

de tipo II y 4 000 de tipo III. Este efecto bactericida podía eliminarse específicamente para cada uno de los organismos añadiendo a las mezclas diluciones entre 1/800 y 1/1 600 del carbohidrato específico. A este respecto es interesante notar que la sangre de un segundo individuo mataba a los neumococos de tipo II y tipo III, pero no tenía acción contra los organismos de tipo I. Estas diferencias en el contenido de anticuerpo de dos individuos normales sugieren que los anticuerpos bactericidas y opsonizantes, o anticuerpos sensibilizantes, presentes en sus sueros, debían su existencia a contactos previos con los neumococos correspondientes.

En este trabajo también se aportan pruebas de un segundo anticuerpo específico de tipo que reacciona con otro constituyente del neumococo; lo hemos omitido aquí por no ser pertinente.

Estamos de acuerdo con Ward y Enders en que el término bacteriotropina debe ser abandonado en favor del término opsonina que tiene la prioridad. Opsonina, sin embargo, designa el anticuerpo termoestable o anticuerpo sensibilizante y no debe utilizarse en su sentido primitivo de anticuerpo termolábil encontrado en el suero normal.

Los estudios de fagocitosis se han hecho con muchos otros organismos, pero en general, los resultados son difíciles de valorar por las diferencias en las técnicas empleadas. Además, es necesario subrayar que todas las técnicas efectuadas *in vitro* para medir la fagocitosis, lo son en condiciones tan artificiales que es peligroso interpretar los resultados con demasiado rigor en términos de infección e inmunidad. Wood y sus colaboradores (1946) han señalado recientemente que la fagocitosis de neumococos tiene lugar en los tejidos animales en ausencia de anticuerpo y aun en presencia de un exceso de antígeno. El no haberse observado esto en las preparaciones *in vitro* pone de manifiesto las graves deficiencias de técnica de este tipo, pero no altera el hecho de que la sensibilización de las bacterias las hace más susceptibles a la fagocitosis en el organismo animal.

El mecanismo físico implicado en la captación de las bacterias u otras substancias extrañas ha sido estudiado por Fenn (1922) y Mudd y col. (1930); quienes se interesen en el problema deben consultar estos trabajos.

REACCIONES SEROLOGICAS PARA LA SIFILIS

Hay ciertas peculiaridades en las pruebas serológicas empleadas para diagnóstico de la sífilis que justifican un estudio por separado del problema. Si bien es necesario emplear un antígeno no específico, el anticuerpo o *reagina*, como es llamado por muchos sifiliógrafos, puede ser considerado como un verdadero anticuerpo sensibilizante; se origina por la presencia de la espiroqueta sifilítica en el organismo. Como *Treponema pallidum* no se puede cultivar fácilmente, es una suerte que se pueda emplear para esta importante prueba un antígeno no específico.

Dado que la sífilis es una infección crónica, los títulos de anticuerpos no se elevan y disminuyen tan intensa y rápidamente como en el caso de las enfermedades infecciosas más agudas. Como resultado de la combinación de los dos factores, no especificidad del antígeno y títulos relativamente bajos de anticuerpos, el desarrollo de una buena reacción para la sífilis ha sido intentado por numerosos serólogos. De hecho, se requiere un equilibrio muy delicado, porque si se emplea un antígeno demasiado sensible hay peligro de obtener falsas reacciones positivas con sueros normales, y, por otra parte, el uso de antígenos menos sensibles impide obtener reacciones positivas en sueros de título bajo.

En los esfuerzos para evitar las dificultades arriba citadas, muchos laboratorios han atacado el problema, empleando cada investigador alguna modificación particular de técnica intentando desarrollar una reacción más satisfactoria. Estas reacciones, conocidas por los nombres de Kahn, Kline, Mazzinni, Kolmer, Hinton, Eagle y otros, sólo representan una pequeña fracción del total de pruebas ideadas. Debe subrayarse que el éxito obtenido con cada una de ellas depende en alto grado de la experiencia que se tenga con la técnica particular. Así, por ejemplo, un individuo que esté entrenado en efectuar un tipo determinado de reacción obtendrá los resultados más dignos de confianza si usa, a este efecto, la técnica con la cual está familiarizado.

Wassermann y sus colaboradores (1906), quienes desarrollaron la primera reacción de fijación del complemento para la sífilis, emplearon una técnica de fijación del complemento en la cual el antígeno era un extracto preparado de hígado de feto muerto de sífilis congénita. En tal caso, el hígado está literalmente abarrotado de espiroquetas y, a falta de cultivos de este organismo, la elección de tal órgano como fuente de material antigénico era absolutamente lógica. Marie y Levaditi (1907) demostraron, sin embargo, que los extractos de hígados normales daban resultados tan buenos como los sifilíticos. Porges y Meier (1908) demostraron que el antígeno se hallaba en la fracción lecitina soluble en alcohol e insoluble en acetona de los lipoides tisulares.

Al presente todos los antígenos están compuestos esencialmente de extractos de corazón de vaca, pero las técnicas de extracción y preparación para uso en las diferentes reacciones antes citadas, varían según el caso. Recientemente, Pangborn (1941, 1942, 1944) ha extraído un fosfolípido denominado *cardiolipina;* parece que esta substancia será el mejor antígeno para uso tanto en las reacciones de fijación del complemento como en las de floculación para la sífilis.

La fijación del complemento o "reacción de Wassermann" para la sífilis se lleva a cabo como indicamos al tratar de la fijación del complemento. En muchos laboratorios sólo se ensaya el suero no diluído, y los resultados se leen como 1+, 2+, 3+, ó 4+, según el grado de hemólisis observada después del segundo período de incubación. Las titulaciones cuantitativas suelen efectuarse empleando diversas diluciones de suero en la forma descrita por Kolmer (1944). Wadsworth, Maltaner y Maltaner (1938) han preconizado un método de titulación del complemento fijado por los sueros sifilíticos.

Las reacciones de floculación para la sífilis se pueden considerar como pruebas de precipitinas modificadas, sólo que después que el antígeno soluble en alcohol es tratado con colesterol y lecitina para lograr sensibilización y dispersión, el material se convierte en una suspensión. Las cantidades óptimas de colesterol y lecitina para usarlas con cardiolipina en las reacciones de floculación para la sífilis han sido investigadas por Brown (1946); son diferentes de las que resultaron óptimas para las reacciones de fijación del complemento (Maltaner y Maltaner, 1945).

El problema de mejorar las diversas pruebas serológicas para la sífilis ha sido vigorosamente atacado desde el comienzo de la segunda Guerra Mundial, cuando se comprobó la producción de falsas reacciones positivas en afecciones como el paludismo y otras e incluso después de inmunizaciones activas como la vacunación para la viruela. Como resultado de las investigaciones efectuadas por diversos grupos de químicos y serólogos, se ha obtenido enorme cantidad de información y no hay duda que, en un futuro próximo, las reacciones serológicas para la sífilis recién desarrolladas, mejores que las ya conocidas, serán empleadas en la mayor parte de los laboratorios de Estados Unidos.

ISOAGLUTININAS

Las isoaglutininas encontradas en la sangre humana son de gran importancia en Medicina a causa del número creciente de transfusiones sanguíneas que se están utilizando para tratar muchas afecciones médicas y quirúrgicas. Sin embargo, es de la mayor importancia determinar correctamente el tipo de sangre antes de inyectarla a un paciente, por el peligro de una reacción grave si se administra sangre de tipo incompatible.

Landsteiner (1901), quien primero reconoció que la sangre de individuos normales era inmunológicamente diferente, clasificó la sangre de 22 individuos en tres tipos diferentes. La existencia de cuatro tipos distintos de sangre humana fué establecida independientemente por Jansky (1907) y Moss (1910). Con frecuencia se indican éstos como los grupos clásicos y se designan por el sistema de clasificación internacional, o sea, O, A, B y AB; las letras mayúsculas significan el antígeno presente en los glóbulos rojos.

Los anticuerpos *a* y *b* (referidos en la literatura hematológica como anti-A y anti-B) que reaccionan con los correspondientes antígenos A y B pueden aglutinar una suspensión de glóbulos rojos que los contengan y, en presencia de complemento, también pueden lisar los glóbulos rojos. Las reacciones transfusionales hemolíticas que resultan de la administración de sangre incompatible son causadas por la lisis de los glóbulos rojos dentro de los vasos.

Los antígenos A y B están presentes en los líquidos y tejidos del organismo, como pelos, líquido cefalorraquídeo y saliva, así como glóbulos rojos, por lo que se puede determinar el tipo de sangre de una persona por métodos de absorción sensibles usando sueros sanguíneos humanos que contienen títulos altos de anticuerpos específicos *a* o *b*, o con sangre de conejo que contenga estos anticuerpos como resultado de inmunizaciones específicas con los correspondientes antígenos. En esta forma ha sido posible determinar el tipo de sangre de un individuo estudiando el antígeno de la saliva en la punta de un cigarrillo (Haraguti, 1929).

Los tipos específicos son heredados directamente; el antígeno debe estar presente en uno de los padres para que aparezca en el niño. La determinación de grupos sanguíneos ha sido utilizada extensamente en casos de paternidad discutida, pero debe señalarse que sólo es significativa como prueba de exclusión.

Los anticuerpos se forman, al parecer, en condiciones naturales, y se desarrollan en los primeros meses después del nacimiento. En los grupos sanguíneos clásicos. el suero suele contener los anticuerpos correspondientes al antígeno ausente, si bien en títulos variables. Así, un individuo AB no podría poseer anticuerpos ni *a* ni *b*, puesto que la sensibilización de sus propios glóbulos sería incompatible con la vida. De igual forma un individuo A puede poseer anticuerpos *b*, un individuo B puede poseerlos *a*, y una persona del grupo sanguíneo O suele tener ambos anticuerpos *a* y *b* en su suero.

En la transfusión sanguínea, lo mejor es inyectar sangre del mismo tipo. Sin embargo, cuando esto no es posible, se puede dar sangre de tipo O si no hay incompatibilidad del factor Rh. Por esta razón los individuos O suelen llamarse donadores universales. Aunque el suero de un individuo O contiene los anticuerpos *a* y *b*, se van diluyendo por la lenta administración de la sangre del donador, de manera que, generalmente, resultan insuficientes para sensibilizar los glóbulos del receptor de los tipos A, B o AB. Por el contrario, el individuo del grupo O no puede recibir sangre de ningún otro tipo que no sea el O porque su suero contiene anticuerpos y los glóbulos del donador son sensibilizados inmediatamente de entrar en su cir-

culación, hemolizándose. Por motivo similar el individuo AB es receptor universal, porque no posee anticuerpos en su suero.

Los antígenos M, N y P, que se pueden demostrar por inyecciones en conejos (Landsteiner y Levine, 1929), no son importantes en las transfusiones de sangre puesto que los anticuerpos correspondientes *m, n* y *p* no existen en la sangre normal. Estos antígenos, como los A y B, son hereditarios; no hay relación entre los antígenos M, N y P y los A y B. Estos antígenos han tomado gran importancia en problemas relacionados con la investigación de la paternidad.

Los avances más significativos en las transfusiones sanguíneas y en ciertas enfermedades clínicas han resultado del descubrimiento por Landsteiner y Wiener, en 1941, del antígeno Rh. El factor Rh fué denominado así por haberse descubierto primero en los glóbulos rojos de los monos *Rhesus*. Los individuos cuyos glóbulos rojos contienen antígeno Rh son designados Rh positivos; aquellos cuyos glóbulos rojos carecen del antígeno son Rh negativos. El 89 por ciento de los americanos blancos, el 90 por ciento de los negros y el 99,5 por ciento de los chinos son Rh positivos. Este factor es importante por su capacidad inmunizante; se ha demostrado que los anticuerpos del factor Rh causan reacción en individuos Rh negativos que previamente han recibido transfusiones con sangre Rh positiva. Más dramática es la situación cuando está estimulada la formación de anticuerpos en una madre Rh negativa durante el embarazo. Esto sólo ocurre cuando el feto es Rh positivo como resultado de genes heredados de un padre Rh positivo. El niño puede sufrir eritroblastosis, y morir *in utero*.

La determinación del tipo Rh es más complicada que la determinación de los grupos sanguíneos ordinarios, en especial porque hay varios antígenos Rh de diferente capacidad antigénica. Como las técnicas están sucediéndose rápidamente, se aconseja consultar la literatura corriente para conocer el método mejor. Muchos cuadros clínicos peculiares están siendo ahora reconocidos como resultados de inmunización Rh.

Desde el descubrimiento del antígeno Rh, se han demostrado dos tipos de anticuerpos Rh en los sueros de individuos Rh negativos sensibilizados. Un anticuerpo aglutina los glóbulos rojos rápidamente en solución salina, el otro requiere la presencia de albúmina para aglutinar los glóbulos Rh positivos. El anticuerpo que actúa en solución salina es el anticuerpo completo, referido algunas veces como anticuerpo "precoz inmune". El anticuerpo que sólo aglutina en presencia de albúmina es llamado *anticuerpo bloqueador* o "anticuerpo hiperinmune". Debe consultarse la literatura corriente para los nuevos estudios sobre este tipo de anticuerpo recién descubierto.

No se han encontrado anticuerpos para factor Rh fuera del embarazo.

Los antígenos Rh se heredan como los otros antígenos de la sangre. Para información adicional sobre isoaglutininas, factores Rh y anticuerpos bloqueadores deben consultarse los libros de Wiener (1943) y Potter (1947).

BIBLIOGRAFIA

ALSEVER, J. B., and AINSLIE, R. B. *N. Y. State J. Med.*, 1941, 41:126.
BORDET, J. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1895, 9:462; 1898, 10:193; 1898, 12:688; 1899, 13:225.
——— and GENGOU, O. *Ibid.*, 1901, 15:129, 289.
BROWN, R. *J. Immunol.*, 1946, 52:17.
BUCHNER, H. *Centralbl. f. Bakter.*, 1889, 5:817; 6:561.
CANNON, P. R., and MARSHALL, C. E. *J. Immunol*, 1940, 38:365.
COWIE, D. M., and CHAPIN, W. S. *J. Med. Res.*, 1907, 17:57, 95, 213.
CULBERTSON, J. T. *J. Immunol.*, 1932, 23:439.
DEAN, H. R. *Zeitschr. f. Immunitätsforsch.* 1912, 13:84.

——— *Lancet*, 1917, 1:45.
——— and WEBB, R. A. *J. Path. & Bact.*, 1926, 29:473.
DUNCAN, J. T. *Brit. J. Exper. Path.*, 1937, 18:108.
FELL, N., RODNEY, G., and MARSHALL, D. E. *J. Immunol.*, 1943. 47:237.
FENN, W. O. *J. Gen. Phys.*, 1922, 4:373.
FOLLENSBY, E. M., and HOOKER, S. B. *J. Immunol.*, 1939, 37:367.
GRINNELL, F. B. *J. Immunol.*, 1930, 19:457.
——— *J. Exp. Med.*, 1931, 54:577.
——— *Ibid.*, 1932, 56:907.
HARAGUTI. *Bulteno de la Jurmed Inst.*, Nagasaki, 1929, 1:45.
HAYES, W. *Brit. J. Exper. Path.*, 1947, 28:98.
HEIDELBERGER, M. *J. Am. Chem. Soc.*, 1938, 60:242.
——— KENDALL, F. E., and TEORELL, T. *J. Exper. M.*, 1936, 63:819.
——— and MAYER, M. *Ibid.*, 1942, 75:285.
——— TREFFERS, H. P., and MAYER, M. *Ibid.*, 1940, 71:271.
HORSFALL, F. L., JR., and GOODNER, K. *J. Immunol.*, 1936, 31:135.
JANSKY, J. 1907. (El artículo de Jansky, publicado en el idioma checo, es inaccesible, pero ha sido revisado críticamente por Kennedy, 1931, *J. Immunol.*, 20:117.)
KOLMER, J. A. *Clinical Diagnosis by Laboratory Examination*, 1944, D. Appleton-Century Co., New York.
KRAUS, R. *Wien. Klin. Wschnschr.*, 1897, 10:736.
LANDSTEINER, K. *Ibid.*, 1901, 14:1132.
——— and LEVINE, P. *J. Immunol.*, 1929, 16:123.
——— and WIENER, A. S. *J. Exper. M.*, 1941, 74:309.
MALTANER, E., and MALTANER, F. *J. Immunol.*, 1945, 51:195.
MARIE, A., and LEVADITI, C. *Ann. l'Inst. Pasteur*, 1907, 21:138.
MARRACK, J. R. *Chemistry of Antigens and Antibodies*, 1938, London.
——— and SMITH, F. C. *Brit. J. Exper. Path.*, 1931, 12:30.
MARTIN, D. S. *J. Lab. and Clin. Med.*, 1943a, 28:870.
——— *Ibid.*, 1943b, 28:1477.
——— ERICKSON, J. O., PUTNAM, F. W., and NEURATH, H. *J. Gen. Phys.*, 1943, 26:533.
MASON, V. R. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1922, 33:116.
MAYER, R. L., and DOWLING, H. F. *J. Immunol.*, 1945, 51:349.
METCHNIKOFF, E. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1889, 3:61, 265; 1891, 5:456; 1895, 9:433.
——— *L'immunité dans les maladies infectueuses*, 1901.
MOSS, W. L. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1910, 21:63.
MUDD, S., LUCKÉ, B., MCCUTCHEON, M., and STRUMIA, M. *J. Exper. M.*, 1930, 52:313 (también publicado en el mismo periódico, 1929, 49:779, 797, 815).
NEISSER, M., and WECHSBERG, F. *Münch. med. Wchnschr.*, 1901, 48:697.
NEUFELD, F., and RIMPAU, R. *Deutsch. med. Wchnschr.*, 1904, 30:1458.
——— *Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrank.*, 1905, 51:283.
NORTHROP, J. H., and DE KRUIF, P. H. *J. Gen. Phys.*, 1922, 4:639.
NUTTALL, G. *Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrank.*, 1888, 4:353.
PANGBORN, M. C. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1941, 48:484.
——— *J. Biol. Chem.*, 1942, 143:247.
——— *Ibid.*, 1944, 153:343.
PFEIFFER, R., and ISSAEFF. *Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrank.*, 1894, 17:355.
PILLEMER, L. *Chem. Rev.*, 1943, 33:1.
PORGES, O., and MEIER, G. *Berlin klin. Wchnschr.*, 1908, 45:731.
POTTER, E. L. *Rh. Its Relation to Congenital Hemolytic Disease and to Intragroup Transfusion Reactions*, 1947, Year Book Publishers, Chicago.
VON FODOR, J. *Deutsch. med. Wchnschr.*, 1886, 12:617.
WADSWORTH, A. B., MALTANER, F., and MALTANER, E. *J. Immunol.*, 1938, 35:105, 217.
WARD, H. K., and ENDERS, J. F. *J. Exper. Med.*, 1933, 57:527.
WASSERMANN A., NEISSER, A., and BRUCK, C. *Deutsch. med. Wchnschr.*, 1906, 32:745.
——— NEISSER, A., BRUCK, C., and SCHUCT, A. *Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrank.*, 1906, 55: 451.
WEIL, E., and FELIX, A. *Wien. klin. Wchnschr.*, 1917, 30:1509.
WIDAL, F. *Bull. Soc. Méd. Hôp. de Paris*, 1896, 13:589.
WIENER, A. S. *Blood Groups and Transfusions*, 1943, Charles C. Thomas, Springfield, Ill.
WOOD, W. B., and IRONS, E. N. *J. Exper. M.*, 1946, 84:365.
——— MCLEOD, C., and IRONS, E. M. *Ibid.*, 1946, 84:377.
——— SMITH, M. R., and WATSON, B. *Ibid.*, 1946, 84:387.
WRIGHT, A. E., and DOUGLAS, S. R. *Proc. Roy. Soc.*, London, 1903, 72:357; 1904, 73:128.

CAPITULO XVI

HIPERSENSIBILIDAD

Hipersensibilidad es un término general que se usa para designar el estado de un animal o de un individuo en el cual la introducción de una substancia causa una reacción mucho mayor que aquella que seguiría a la introducción de igual cantidad de la misma substancia en un animal normal. Hay muchos tipos de hipersensibilidad y los tipos de reacción son completamente diferentes, no solamente según las diferencias entre las especies animales y entre los individuos, sino también según la naturaleza del antígeno y las circunstancias que acompañan a su introducción en el animal. En muchos casos el desarrollo de hipersensibilidad en un organismo es parte importante del cuadro clínico de una enfermedad infecciosa. En otros, los individuos sufren intensamente por trastornos como fiebre del heno y asma, debido a su hipersensibilidad para substancias como pelo de gato, ambrosía y otras completamente innocuas.

Desgraciadamente se han introducido en la literatura numerosos términos para describir las diversas formas de hipersensibilidad y no hay acuerdo unánime en cuanto a la interpretación adecuada de tales términos. Según algunos investigadores, la palabra anafilaxia sólo debe usarse para describir lo que ocurre después de la administración de antígenos en animales sensibilizados específicamente y en condiciones experimentales en el laboratorio; el término alergia debe aplicarse únicamente a las reacciones de tipo hipersensible que ocurren en el hombre. El hombre, sin embargo, presenta una amplia variedad de reacciones, algunas de las cuales parecen estar relacionadas con el tipo anafiláctico observado en los animales; para éstas se ha propuesto el término *atopia*.

El término *alergia*, que significa simplemente "reacción alterada", se usa por los clínicos para designar procesos como fiebre del heno, urticaria, asma, idiosincrasias para drogas y alimentos, y otros. El bacteriólogo, por otra parte, cuando se encuentra con la palabra alergia, suele pensar primero en la hipersensibilidad que se desarrolla para las bacterias como resultado de la infección y que produce un tipo de reacción totalmente diferente del que se ve en las llamadas alergias clínicas.

El problema de la hipersensibilidad en el hombre es extraordinariamente complejo y no se presta a estudios experimentales, puesto que la producción artificial de hipersensibilidad, diferente de la inmunidad, no es ni deseable ni justificable. Es necesario, por lo tanto, recurrir a la experimentación animal para obtener datos concernientes a los posibles mecanismos de las diversas reacciones; pero no consideramos adecuado establecer una división arbitraria como la que limita el término anafilaxia a las reacciones producidas en los animales, y el término alergia al estado de hipersensibilidad que ocurre naturalmente en el hombre.

Aquí el problema de la hipersensibilidad será presentado describiendo dos tipos principales de hipersensibilidad, a saber, la anafilaxia y la hipersensibilidad bacteriana, como han sido producidas en los animales. Se intentará interpretar algunos de los fenómenos observados en clínica médica cuando la hipersensibilidad se ha desarrollado espontáneamente, o sea, en forma no dirigida.

HIPERSENSIBILIDAD EN LOS ANIMALES

La hipersensibilidad, en cuanto se produce experimentalmente en los animales, puede subdividirse en dos tipos principales. El primero que vamos a estudiar es el tipo anafiláctico caracterizado por una reacción violenta que ocurre pocos minutos después de la inyección de un antígeno a un animal previamente sensibilizado y que da lugar a espasmo de los músculos lisos, intensos cambios vasculares y otros efectos que pueden acabar en la muerte. El segundo tipo difiere del tipo anafiláctico en que la inyección del antígeno produce una reacción mucho más lenta; se caracteriza por la muerte de las células tisulares en el sitio de la inyección. Esta última forma de hipersensibilidad se denomina tipo bacteriano de hipersensibilidad o alergia bacteriana.

Ambos tipos de hipersensibilidad resultan de la interacción antígeno-anticuerpo, pero los tipos de respuesta son tan diferentes que deben ser considerados como fenómenos completamente distintos.

Anafilaxia. La muerte ocasional de un animal *inmune*, consecutiva a la inyección de una pequeña cantidad de antígeno, ya fué observada por algunos de los primeros investigadores, pero se atribuyó poco significado al fenómeno, hasta el trabajo de Richet y sus colaboradores (Portier y Richet 1902; Richet 1907). Trabajando con actinocongestina, extracto tóxico de los tentáculos de *Actinia* y mitilocongestina, tóxico de ciertos moluscos, se observó que los perros que se habían recuperado de una inyección de la toxina morían si se les inyectaba un tiempo después la toxina, aun cuando la dosis usada para la reinyección fuera menor que la requerida para producir un efecto observable en los perros normales.

Por este tiempo, Theobald Smith observó que los cobayos sucumbían a las inyecciones de toxina y antitoxina diftérica si los intervalos entre las inyecciones se espaciaban demasiado. Esta reacción, referida con frecuencia como "fenómeno de Theobald Smith", fué estudiada extensamente por Otto (1907). Rosenau y Anderson (1906, 1907) investigaron la reacción consecutiva a las inyecciones de suero de caballo en cobayos sensibilizados para suero de caballo y demostraron su especificidad comprobando que las inyecciones de suero de animales que no fuesen caballos no producían la reacción en tales cobayos.

Las reacciones anafilácticas en el conejo fueron estudiadas primero por Arthus (1908), quien describió las reacciones locales y generales en estos animales y observó que el tipo de reacción dependía de la dosis y del sitio de inyección del antígeno. La reacción local se conoce como "fenómeno de Arthus".

La mayor parte de la información concerniente al mecanismo de la sensibilización anafiláctica se ha obtenido por estudios en conejos, perros y cobayos, aunque el fenómeno ha sido observado en otros animales. Los intentos de sacar conclusiones generales de los efectos obtenidos en diferentes animales han dado lugar a numerosas controversias acerca de los factores que intervienen en la producción del choque anafiláctico.

Anafilaxia en el cobayo. El cobayo es probablemente de los animales de laboratorio más fáciles de sensibilizar y de tener choque. La sensibilización se puede lograr casi con cualquier antígeno, aunque en la mayor parte de los experimentos se han usado substancias solubles altamente antigénicas, como albúmina de huevo o suero de caballo. La sensibilización se puede lograr activamente, por inyección del antígeno, o pasivamente, por inyección del suero de otro animal que contenga anticuerpos específicos para el antígeno en cuestión. Los cobayos se pueden sensibilizar fácilmente por una sola inyección de un antígeno como suero de caballo en

dosis de 0,1 a 1,0 c.c. Rosenau y Anderson lograron sensibilizar un cobayo con una dosis de 0,000001 c.c. de suero de caballo.

El choque anafiláctico en cobayos sensibilizados activamente sólo se puede producir si la dosis desencadenante se administra diez o más días después de la dosis sensibilizante de antígeno. En cobayos sensibilizados pasivamente puede producirse el choque tan pronto como haya salido de la circulación antígeno suficiente y se haya unido a las células de los tejidos. Las relaciones de tiempo se pueden apreciar mejor después de estudiar el cuadro clínico del choque en estos animales y los experimentos efectuados para dilucidar el mecanismo de la reacción.

En los cobayos sensibilizados, el choque se produce de manera más constante cuando la dosis desencadenante del antígeno se inyecta intravenosamente. Se puede producir el choque en los animales por inyecciones intraperitoneales; sin embargo, se requieren dosis mayores y el efecto no se produce con tanta rapidez.

Antes de un minuto después de haber administrado la inyección intravenosa, el animal se vuelve intranquilo, el pelo se eriza; con frecuencia se rasca su nariz y estornuda. Puede haber descarga de heces y de orina. El cobayo puede dar algunos saltos espasmódicos, signos más claros de dificultad respiratoria y, en casos graves, morir en crisis convulsiva, esforzándose literalmente para respirar. El corazón continúa latiendo algunos minutos después de detenerse la respiración; si se autopsia al animal inmediatamente, se encuentran los pulmones distendidos por aire. Los síntomas del choque anafiláctico en los cobayos nunca se retrasan más de 10 minutos. Algunos animales mueren a los dos minutos después de la inyección del antígeno.

Si el animal en choque no muere, se hace temporalmente refractario y no presenta ningún síntoma de choque si se inyecta con antígeno, aun en grandes dosis. Este período refractario usualmente dura varias semanas; durante este intervalo se dice que el animal está *desensibilizado*.

El mecanismo fisiológico del choque en el cobayo fué explicado por Auer y Lewis (1909, 1910), quienes demostraron que la dificultad respiratoria era debida a broncoespasmo que no se podía prevenir por la sección del vago o de otros nervios. Dale (1912) verificó este punto y demostró que el espasmo se podía producir por perfusión del antígeno a través de los pulmones extirpados de los cobayos sensibilizados.

Un gran adelanto en el estudio de la anafilaxia se hizo después de la introducción de la técnica de Schultz-Dale, que permitió la observación directa de la reacción del músculo liso sensibilizado al contacto con el antígeno. Schultz (1910) estudió las contracciones de segmentos de intestinos de los animales sensibilizados; Dale (1912) mejoró la técnica usando trompa uterina de cobayo virgen.

La técnica consiste esencialmente en separar una de las trompas uterinas de un cobayo virgen, sujetando un extremo a una pinza y atando el otro a una palanca que registre la contracción en un cilindro ahumado en movimiento. El segmento uterino se suspende en solución de Locke o de Ringer y las substancias a probar se añaden a voluntad.

La técnica de Schultz-Dale, ampliamente utilizada en los estudios de Dale y sus colaboradores, Weil y otros, estableció un número de hechos importantes para la comprensión del mecanismo de la anafilaxia. Se demostró, por ejemplo, que el efecto podía ser producido por dosis extremadamente pequeñas de antígeno. Dale y Hartley (1916), publicaron que la contracción de la trompa uterina sensibilizada al suero de caballo se producía añadiendo 1 c.c. de dilución al 1 por 10 000 000 de suero de caballo al baño que contenía 150 c.c. de solución. Muchos de los hechos previa-

mente descritos a base de experimentos en animales fueron confirmados por este método. La especificidad de la reacción fué comprobada observando que las contracciones uterinas sólo ocurrían cuando se añadía el antígeno homólogo. Además, después que un segmento uterino se había contraído como resultado de la estimulación por un antígeno y se había relajado a la longitud original, no respondía a un segundo contacto con el antígeno, indicando que había sido desensibilizado. Que el músculo en sí no estaba dañado, se comprobó por la típica contracción producida por adición de histamina al baño.

Probablemente los hallazgos más significativos que resultaron del uso de la técnica de Schultz-Dale fueron los que demostraron de manera concluyente que para obtener la reacción del anticuerpo debe estar unido a la célula animal. Estas observaciones también subrayaron las relaciones de tiempo, tan importantes en la anafilaxia. Se demostró que el músculo se contraía al añadir antígeno, incluso si el útero había sido perfundido cuidadosamente con solución de Ringer para separar todos los indicios de sangre. La perfusión se podía llevar a cabo antes o después de extirpar el útero. El útero también podía ser separado del cuerpo de un cobayo normal y sensibilizado pasivamente por perfusión con antisuero. En este caso, la perfusión había de ser ejecutada por lo menos cuatro o cinco horas antes para que se pudiera obtener la respuesta del útero a la adición del antígeno, reafirmando que el anticuerpo debe estar unido a las células para que la reacción se pueda producir.

El cuadro clínico del choque en los cobayos siempre es el mismo, independientemente del antígeno empleado. El hecho más significativo es la respuesta violenta del animal cuando el antígeno específico llega al contacto con su anticuerpo homólogo fijado previamente a las células del organismo. La reacción predominante del cobayo es la contracción violenta de los músculos lisos, aunque hay efectos circulatorios secundarios. La similitud del cuadro del choque y el producido por la histamina fué observado muy pronto; se han efectuado cierto número de investigaciones con el propósito de determinar si la reacción antígeno-anticuerpo que tenía lugar en las células liberaba histamina. Code (1939) demostró que la sangre de los animales anafilácticos contenía mucha más histamina que la de los animales normales; se observaron proporciones tan altas como 13/1. Recientemente se ha intentado obtener un anticuerpo para la histamina; se consideraba que un anticuerpo antihistamina debería proteger contra el choque combinándose con la histamina a medida que sería liberada (Fell, Rodney y Marshall, 1943). Como la histamina no es antigénica tenía que inyectarse con histamina-azoproteína. Coffin y Kabat (1946) inmunizaron cobayos con la histamina conjugada, pero los animales sucumbieron de choque histamínico cuando la droga fué inyectada después. Los animales inmunizados con esta substancia, sin embargo, eran mucho menos sensibles al choque inducido por inyección de albúmina de huevo cristalizada en animales sensibilizados pasivamente. Estos autores hicieron la observación interesante de que resultaba una protección contra el choque igualmente buena por inmunización de los animales con una mezcla de suero humano y un coadyuvante que no contenía histamina-azoproteína. Señalaron, sin embargo, que posiblemente se podían producir anticuerpos contra la histamina casi con cualquier proteína extraña, por su contenido en histidina.

Anafilaxia en el conejo. Los conejos son más difíciles de sensibilizar que los cobayos; suelen requerir varias dosis de antígeno. El cuadro del choque generalizado, producido por inyección intravenosa de antígeno al animal sensibilizado, es por completo diferente del que se observa en el cobayo. No hay síntomas respiratorios,

el animal se colapsa, hay emisión de orina y heces, y después de algunas crisis convulsivas, muere. La autopsia muestra dilatación extrema de la parte derecha del corazón; Coca (1919) demostró que era debida a la constricción de las ramas de la arteria pulmonar, que originaba dilatación y el subsiguiente desfallecimiento del corazón.

Se han observado en el conejo anafiláctico otros fenómenos distintos de los espasmos vasculares tales como disminución de la coagulabilidad sanguínea y disminución en el número de leucocitos de la sangre periférica. Webb (1924) había descrito la acumulación de leucocitos en los capilares de la circulación pulmonar; Dragstedt, Ramírez y Lawton (1940) comprobaron que los leucocitos desaparecían rápidamente de la sangre que había sido mezclada con antígeno y perfundida por los pulmones sensibilizados.

Las relaciones de tiempo en el choque anafiláctico en el conejo, son también diferentes de las observadas en el cobayo. De hecho los conejos sufren más fácilmente el choque cuando el título de precipitina del suero es alto, lo cual está en contraste evidente con las observaciones hechas sobre los cobayos, en los cuales se observó que el anticuerpo circulante en realidad protegía al animal del choque. Friedemann (1909) y Scott (1911) habían observado que no era necesario un período de espera para que se fijaran los anticuerpos en las células y se produjera anafilaxia en conejos sensibilizados pasivamente. Estas diferencias entre el conejo y el cobayo y las circunstancias en las cuales ocurre el choque, han sido estudiadas por Dragstedt, cuya excelente revisión publicada en 1941 deberá ser consultada para demostración de que los leucocitos circulantes constituyen la fuente de la histamina en el conejo.

La inyección subcutánea de antígeno en conejos sensibilizados produce edema e infiltración que puede acabar en gangrena. Esta reacción, llamada "fenómeno de Arthus", es extremadamente difícil de producir en el cobayo o en el perro (Opie, 1924), pero ha sido descrita en el hombre. Opie también demostró que la intensidad de la reacción era proporcional al título de precipitina del suero y creyó que dependía de la formación de un precipitado intracelular seguida de irritación e inflamación. La necrosis local, sin embargo, se puede explicar por la intensidad de la reacción vascular local, como indicaron Rich y Follis (1940), quienes demostraron en el conejo que los tejidos no vascularizados, pero sensibilizados, como la córnea, no se afectaban por el contacto con antígeno. También puede influir en el fenómeno la acumulación en los tejidos de leucocitos cargados de histamina, como señaló Dragstedt.

Anafilaxia en el perro. Los síntomas anafilácticos en el perro son: debilidad y colapso, después de vómitos y expulsión de orina y heces. El cuadro en la necropsia es la congestión de las vísceras abdominales con enorme aumento de volumen e ingurgitación del hígado. Manwaring (1911) demostró que el choque agudo en los perros se podía prevenir por la exclusión operatoria del hígado. El perro también presenta otros trastornos, como intensa reducción en la coagulabilidad de la sangre. Los numerosos estudios sobre concentraciones de histamina y heparina en perros anafilácticos han sido revisados por Dragstedt (1941).

Reacciones anafilácticas. Las personas y otros materiales, como coloides orgánicos y sueros tratados con diversas substancias para hacerlos *tóxicos*, pueden causar síntomas que semejan el choque anafiláctico cuando se inyectan intravenosamente en los animales. Las reacciones anafilactoides no deberán confundirse con la anafilaxia verdadera, puesto que ésta es sola y estrictamente una reacción de antígeno y anticuerpo.

Anafilaxia e inmunidad. Aunque hay diferencias de opinión en cuanto a los mecanismos que intervienen en la anafilaxia, no cabe duda de que resulta de la unión del antígeno y el anticuerpo en un animal. Para producir el choque, sin embargo, el antígeno, en dosis relativamente grandes, debe reaccionar con el anticuerpo en un corto período de tiempo y liberar suficiente histamina o una substancia similar. Por cuanto se sabe, no hay diferencia esencial entre los anticuerpos producidos por inyección de un antígeno anafiláctico y los originados en respuesta a los antígenos bacterianos ordinarios. Sin embargo, el choque no tiene lugar después de la inyección intravenosa de bacterias íntegras, porque los antígenos no se liberan de la célula bacteriana con bastante rapidez para que quede suficiente antígeno que cause la reacción. Sin embargo, se ha comprobado que algunos extractos bacterianos solubles obtenidos de cultivos inyectados a los animales sensibilizados producen choque.

Como se ha indicado en un capítulo anterior, la inmunidad es un estado extremadamente complejo en el cual los anticuerpos juegan importante papel. Sin embargo, ya indicamos que el médico debería interpretar los hallazgos serológicos en lo que se refiere al paciente y su enfermedad, sin considerar la producción de anticuerpos exclusivamente como un mecanismo de inmunidad. Los datos presentados en este capítulo demuestran que la formación de anticuerpos puede dar lugar a un estado de sensibilidad extrema para un material enteramente innocuo, estado que cabe interpretar como inmunidad.

El fenómeno de *desensibilización* fué mencionado en la sección de anafilaxia en el cobayo. Se han propuesto muchas teorías acerca de los mecanismos que intervendrían en la desensibilización. Una de ellas cree que se forma un anticuerpo para el anticuerpo anafiláctico, pero tal punto de vista es insostenible en vista de la desensibilización que ocurre en el útero del cobayo inmediatamente después de la contracción producida por la introducción del antígeno. Los cobayos que se restablecen después de un choque grave, no son sensibles a nuevas dosis de antígeno hasta varias semanas después, en cuyo tiempo no sólo son tan sensibles como antes de la dosis desensibilizante original, sino que probablemente presentan mayor tendencia a reaccionar a causa de la formación de anticuerpos adicionales en respuesta a la dosis de antígeno inyectada en el momento del choque. Sin embargo, es lógico admitir que el antígeno que estimula la contracción del útero del cobayo entra en combinación con el anticuerpo en la célula y que la adición de más antígeno no puede estimular la contracción porque el grupo de combinación del anticuerpo ha sido ya satisfecho. Esta teoría, aunque sujeta a crítica, proporciona el fundamento de los procedimientos de desensibilización usados en clínica, especialmente cuando es necesario administrar suero terapéutico a un individuo hipersensible. En este caso, no interesa desensibilizar por el método del choque, pero se pueden administrar dosis subdesencadenantes. Teóricamente, estas pequeñas dosis liberan histamina o substancia histaminoide en cantidades tan pequeñas que no ocasionan efectos generales de intoxicación histamínica. Afortunadamente la reacción ocurre tan rápidamente que las dosis crecientes de antígeno se pueden administrar cada media hora; en general se puede dar una dosis terapéutica de suero humano a individuos hipersensibles en plazo de diez a doce horas.

En la desensibilización hay muchos factores no específicos que no han sido explicados. El choque anafiláctico se puede prevenir o aminorar por la pronta administración de un antagonista de la histamina, como la *adrenalina*.

Hipersensibilidad bacteriana. El fenómeno de la alergia bacteriana es enteramente diferente del de la anafilaxia. La reacción consecutiva a la inyección de an-

tígeno a un animal que sufre hipersensibilidad bacteriana no aparece hasta muchas horas después de hecha tal inyección. La hipersensibilidad no se puede transferir pasivamente a otro animal por inyección de suero de un animal hipersensible; si se preparan cultivos de tejidos de animales que sufren hipersensibilidad bacteriana, la exposición al antígeno matará las células (Rich y Lewis, 1932). En el fenómeno anafiláctico se produce una respuesta característica en cada especie animal; algunas especies, como la rata, son extraordinariamente difíciles de sensibilizar y en ellas cuesta mucho producir choque. La hipersensibilidad bacteriana, por el contrario, se puede producir en casi todos los animales y no hay diferencias sobresalientes en las reacciones obtenidas según las especies animales.

En el tipo de hipersensibilidad bacteriana, por regla general, la introducción del antígeno produce una zona de inflamación, cosa que en condiciones naturales significa infección. Esto contrasta con el método de sensibilización en la hipersensibilidad anafiláctica en que el material sensibilizante suele ser innocuo. A pesar de no poder demostrar anticuerpos en los sueros de tales animales, la mayor parte de investigadores en este campo admiten que la hipersensibilidad bacteriana es una verdadera reacción antígeno-anticuerpo. Los anticuerpos, sin embargo, parecen firmemente adheridos a las células de los tejidos y no llegan en cantidades suficientes a la circulación para que puedan ser demostrados por los métodos conocidos hasta ahora. Que tales anticuerpos deben aparecer en la sangre en algún momento, lo sugiere el hecho de que todos los tejidos del organismo se hacen hipersensibles y que la inyección de antígeno en cualquier sitio origina reacción. La hipersensibilidad a la tuberculina ha sido transferida de cobayos sensibilizados a cobayos normales por inyección de leucocitos de exudados pleurales (Chase, 1945).

El hallazgo característico en la hipersensibilidad de tipo bacteriano es que la inyección de un antígeno inofensivo para el animal normal, produce choque y aun necrosis en las células de los tejidos. La desensibilización se puede lograr, en parte al menos, por inyección de dosis subliminales de antígeno. Este método permite reducir la hipersensibilidad al grado que el animal ya no reaccione a la inyección del material que previamente causaba necrosis e inflamación.

Alergia e inmunidad bacterianas. La relación que la alergia bacteriana guarda con la inmunidad es uno de los temas más fascinantes en el amplio campo de las enfermedades infecciosas. La cuestión fundamental estriba en saber si la hipersensibilidad bacteriana es ventajosa o dañina para el animal. No parece lógico que un animal deba beneficiarse por el desarrollo de un estado en el cual el contacto con el antígeno bacteriano, innocuo para los tejidos de los animales normales, va seguido de destrucción e inflamación de los tejidos. Por otra parte, muchos investigadores piensan que la reacción de hipersensibilidad tiene cierto valor en las infecciones, puesto que la inflamación resultante crea una barrera mecánica que impide la diseminación del microorganismo por los tejidos.

Puede citarse como ilustración del problema el bien conocido *fenómeno de Koch*. Este autor había observado que la inyección subcutánea de bacilos tuberculosos virulentos en cobayos normales daba lugar, después de 10 ó 15 días, al desarrollo lento de un nódulo en el sitio inyectado, que después de varias semanas se reblandecía y se transformaba en una úlcera crónica. Si se inyectaba la misma dosis de bacilos tuberculosos virulentos en condiciones similares a un cobayo que había sido infectado por lo menos una semana antes, la reacción local se desarrollaba rápidamente, la ulceración era superficial y curaba pronto. Se ha comprobado que la inyección de bacilos tuberculosos virulentos a un animal normal, no solamente produce la ulceración local descrita por Koch, sino que los microorganismos pueden

encontrarse en los ganglios linfáticos de todo el cuerpo pocos días después de la inoculación. En animales previamente sensibilizados con cepas avirulentas de bacilos tuberculosos, la inyección de organismos virulentos causa la reacción acelerada de Kock, pero el bacilo no se disemina rápidamente por todo el cuerpo. Los cobayos de ambos grupos, sin embargo, con el tiempo acaban por sucumbir a la infección.

El fenómeno se interpreta admitiendo que el fracaso para diseminarse rápidamente los gérmenes resultaría directamente de la reacción inflamatoria local, que produce trombosis y otros efectos de naturaleza mecánica. Rich, por otra parte, admitía que la retención local de los bacilos en los animales previamente sensibilizados era causada por los mecanismos de inmunidad del organismo y que la inflamación local aguda era un efecto secundario dañino, resultante de la hipersensibilidad de los tejidos.

Rothschild y col. (1934), trabajando en el laboratorio de Rich, demostraron que los cobayos infectados con una cepa avirulenta, y, por lo tanto, hipersensibles, se podían desensibilizar con tuberculina vieja, a tal grado que si eran inyectados subcutáneamente con grandes dosis de bacilos tuberculosos virulentos o de tuberculina vieja, no se desarrollaban lesiones inflamatorias. Estos animales desensibilizados fueron comparados con un grupo que había sido sensibilizado de la misma manera, pero cuya hipersensibilidad no había sido abolida por el tratamiento con tuberculina vieja. Todos los animales de ambos grupos murieron de tuberculosis, pero se hizo una observación importante: los animales desensibilizados vivieron tanto como los animales testigos, demostrándose así que el estado de hipersensibilidad no constituía parte esencial de la resistencia.

Los resultados antes expuestos parecen demostrar que el estado alérgico puede suprimirse sin reducir la resistencia del animal (Rich, 1941). Willis y col. (1938) observaron, sin embargo, que si los animales se mantenían desensibilizados por períodos tan largos como cinco o seis meses, la infección con bacilos tuberculosos virulentos causaba lesiones más extensas que las obtenidas en los animales que no habían sido desensibilizados. Es posible que las inyecciones diarias de tuberculina vieja tuvieran también acción sobre la resistencia del animal, puesto que Rothschild y col. habían observado pérdida de peso y debilidad en un grupo de animales normales inyectados diariamente con tuberculina vieja, y Follis (1938), repitiendo los experimentos de Willis, confirmó estos hallazgos. Follis observó que se desarrollaba una tuberculosis más grave en algunos de los animales desensibilizados, pero que ello probablemente resultaba de algún factor que no era la sensibilización.

No se sabe nada acerca del anticuerpo causante de la hipersensibilidad bacteriana, puesto que no se puede demostrar en el suero ni por transmisión pasiva. Que existe tal anticuerpo debe admitirse principalmente porque la reacción es tan específica que resulta difícil explicarla por cualquier otra hipótesis que no sea una combinación de antígeno y anticuerpo.

Es muy importante el hecho de que el tipo de hipersensibilidad bacteriana sólo se desarrolla cuando el antígeno, en la primera inyección, produce una lesión o coincide con ella. Dienes y Schoenheit (1929, 1930), han demostrado que la reacción tardía, o reacción a las 24 horas, típica de la hipersensibilidad bacteriana, puede producirse por antígenos como suero de caballo y clara de huevo, si los animales han sido previamente sensibilizados por inyección de estos materiales en lesiones tuberculosas. Es posible, por supuesto, que este tipo de reacción sea debido a un anticuerpo formado localmente por las células de los tejidos. No podemos dejar de estar impresionados con los recientes experimentos en los cuales se han inyectado

antígeno junto con excipientes formados por bacilos tuberculosos muertos por el calor y agua en emulsiones oleosas. Los animales inoculados con tejido cerebral normal emulsionado en estos excipientes, desarrollan más tarde lesiones necróticas en diversas porciones del cerebro (Freund y col., 1947).

Desensibilización. En la alergia bacteriana se logra probablemente por los mismos principios que en la desensibilización de anafilaxia. Las dosis deben ser pequeñas para evitar la necrosis de los tejidos, y deben darse con intervalos no menores de 48 horas.

Fenómeno de Shwartzman. Un tipo peculiar de reactividad tisular local, fué descrito en 1928 por Shwartzman, quien observó que si se hace una sola inyección de filtrado de cultivo de *S. typhosa* en la piel de un conejo y se inyecta el mismo material intravenosamente 24 horas después, se desarrolla una lesión necrótica y hemorrágica grave en el sitio de la inyección cutánea. La reacción hasta cierto punto no es específica, por cuanto el filtrado usado para la inyección cutánea preparatoria origina la misma reacción después de la inyección intravenosa del filtrado de otro microorganismo. Así, por ejemplo, un lugar de la piel preparado con filtrado de meningococo reacciona después de la inyección intravenosa, no solamente de filtrado de meningococo, sino también de filtrados de bacilo tífico y de coli. Esta falta de especificidad excluye que la lesión resulte de una combinación antígeno-anticuerpo; también el intervalo de tiempo entre las inyecciones preparatoria y desencadenante es demasiado corto para explicar la reacción por formación local de anticuerpo en la piel, especialmente si se tiene en cuenta la extensión y la gravedad de las lesiones.

No cabe duda de que hay substancias en los filtrados bacterianos que pueden afectar una zona local de tejido de modo que reaccionen violentamente al contacto con el mismo antígeno u otro similar. El problema de la hipersensibilidad de los tejidos en tales circunstancias, queda abierto para el estudio, especialmente en caso de infecciones combinadas o latentes; es posible que cuadros patológicos notablemente diferentes resulten de la reacción de tales tejidos alterados a una infección bacteriana sobreañadida.

HIPERSENSIBILIDAD EN EL HOMBRE

La anafilaxia en el hombre semeja a la de los animales cuando las condiciones de producción son similares. Tal ocurre, por ejemplo, con la inyección de grandes cantidades de sueros extraños con propósitos terapéuticos. Hay un segundo grupo de estados clínicos, las *alergias clínicas*, en las cuales los tipos de reacción son completamente diferentes pero los mecanismos inmunológicos resultan similares a los que causan los síntomas del choque y de la enfermedad del suero. Las alergias clínicas, sin embargo, ocurren en condiciones naturales y muchos de los criterios establecidos para la producción de anafilaxia en los animales, no pueden ser demostrados.

El *choque anafiláctico*, por fortuna, no se presenta en el hombre en condiciones naturales. Sin embargo, como las antitoxinas están contenidas en sueros extraños, la inyección de gran cantidad de proteínas extrañas puede dar lugar a la aparición del choque. *Las inyecciones de suero nunca deben administrarse sin las pruebas preliminares para descartar la hipersensibilidad.* Debe preguntarse primero al paciente si recibió inyecciones previas de suero y si sufre cualquier forma de trastorno alérgico como asma o fiebre del heno. Independientemente, debe comprobarse la hipersensibilidad antes de inyectarle cualquier suero extraño.

La *prueba cutánea* se practica inyectando 0,1 c.c. de un dilución al 1 por 10 de suero de caballo en suero salino. La *reacción positiva* se manifiesta por la aparición en 10 ó 20 minutos de una *pápula* con *seudópodos* rodeada por una zona de *eritema*.

La *prueba oftálmica* se practica colocando una gota del suero de caballo no diluído en el saco conjuntival de un ojo. La aparición dentro de diez o veinte minutos de un enrojecimiento difuso y una secreción acuosa constituye una prueba positiva. La reacción puede detenerse utilizando adrenalina al 1/1000 en el ojo afectado. La prueba oftálmica es menos sensible que la cutánea. Si es positiva, está contraindicada la seroterapia sin previa desensibilización.

La *desensibilización* se efectúa administrando dosis progresivamente crecientes del suero con intervalos de media hora. En pacientes muy sensibles no debe darse más de 0,1 c.c. de una dilución al 1/1 000 en la primera dosis; la inyección debe hacerse en el antebrazo o en la pierna. En la práctica, lo usual es doblar las dosis a cada inyección siempre que la anterior no produzca molestias. Debe tenerse a mano, lista para la inyección en el instante en que se necesite, una jeringa con adrenalina al milésimo. En muchos casos ha resultado de gran valor colocar un torniquete para bloquear la absorción del suero inyectado en el antebrazo. Después de la administración de dosis adecuadas de adrenalina, el torniquete se puede aflojar para volverlo a aplicar si los síntomas aparecen de nuevo.

Enfermedad del suero. El proceso conocido como enfermedad del suero no solamente es un cuadro clínico fascinante, sino que también ilustra algunos puntos muy importantes, característicos de la infección. Es una enfermedad propia del hombre, que aparece pocos días después de administrar un suero terapéutico a un individuo que nunca antes recibió inyección de antígeno.

Como en las enfermedades infecciosas, hay un período de incubación después de la inyección del suero, durante el cual no hay síntomas de ninguna clase. Los signos de reacción raramente aparecen antes de una semana o después de dos desde la inyección del suero. En individuos previamente sensibilizados, el período de incubación puede estar acortado y la enfermedad del suero acelerada se manifiesta en plazo de doce a noventa y seis horas. El cuadro clínico, como el de muchas enfermedades infecciosas, es en extremo variable. Puede haber fiebre alta, dolor de cabeza, erupciones que simulan la escarlatina o el sarampión. Son síntomas comunes la inflamación y el dolor articulares. Se pueden desarrollar pápulas de urticaria y prurito intenso. Generalmente hay caída de la presión sanguínea, leucopenia, descenso de la coagulabilidad de la sangre y, en ocasiones, albuminuria. Los síntomas pueden durar varios días; durante ese tiempo, los pacientes, especialmente si son adultos, están extremadamente molestos.

Los síntomas clínicos indudablemente resultan de una serie de reacciones que tienen lugar entre el antígeno, que está aún presente en el organismo, pero en una cantidad gradualmente decreciente, y los anticuerpos correspondientes que aumentan gradualmente en cantidad, por cuanto se producen por mecanismo de inmunidad. La enfermedad, que se puede considerar como una serie continua de reacciones de inmunidad y de desensibilización, nunca es mortal *per se*.

Han sido irregulares los resultados obtenidos por los investigadores que han intentado comprobar que la enfermedad del suero resulta de la reacción antígeno-anticuerpo. Tales irregularidades son lógicas durante la fase álgida del proceso, puesto que el antígeno y el anticuerpo combinados no se descubrirán añadiendo por separado los reactivos al suero del paciente en un tubo de ensayo, excepto posiblemente en casos en que la adición de un exceso de anticuerpo cause precipitación

de un complejo soluble antígeno-anticuerpo que contenga exceso de antígeno. Sin embargo, los datos observados y las relaciones de tiempo de las reacciones nos llevan a la conclusión ineludible de que el mecanismo es el de una verdadera combinación antígeno-anticuerpo con síntomas que resultan de la liberación de histamina.

Son muy variables las reacciones observadas en los diferentes individuos. En algunos casos, una persona puede no desarrollar anticuerpos; se ha comprobado que el suero extraño, en estos casos, permanece en la circulación durante meses (Longcope y MacKenzie, 1920). Si al paciente también le falta la capacidad para formar anticuerpos al ser atacado por un antígeno vivo invasor, habrá de sucumbir a una infección con cierta rapidez.

Otros individuos forman anticuerpos lentamente y eliminan el suero extraño en forma gradual, sin desarrollar síntomas, pero en ellos se desarrolla una extrema sensibilidad de los tejidos que se puede demostrar por pruebas cutáneas. Este tipo de reacción es análogo a la infección subclínica por un organismo vivo en la cual la inmunidad, y en algunos casos la alergia (tuberculosis), se desarrollan sin signo alguno de enfermedad.

En pacientes que previamente han recibido suero, el comienzo de la enfermedad del suero ocurre después de un período de incubación mucho más corto; ello puede ser explicado por la capacidad del paciente para formar anticuerpos con mayor rapidez que la persona que no tuvo contacto previo con el antígeno. Esta rápida respuesta de anticuerpo se puede considerar análoga a la reacción anamnésica que se observa después de administrar dosis reactivantes de vacuna.

Las reacciones anafilácticas, aunque raras en el hombre, son causadas por la presencia de grandes cantidades de anticuerpos preformados en los tejidos del organismo, de una manera similar a como ocurre en los animales sensibilizados activamente. Aunque algunos autores consideran las reacciones graves después de inyectar suero como casos de *choque sérico*, no hay razón para creer que el mecanismo fundamental difiera del que en los animales origina el choque anafiláctico.

Fenómeno de Arthus. Las lesiones necróticas locales, características del fenómeno de Arthus, han sido observadas ocasionalmente en el hombre. Las hemos visto en un niño que había recibido varias dosis subcutáneas espaciadas de antitoxina escarlatinosa con intervalos. La segunda inyección de suero se administró cuando cabía esperar que el paciente desarrollara la enfermedad del suero; que la erupción había sido interpretada como recaída de la escarlatina. La tercera dosis administrada por la misma razón, causó reacción necrótica grave con esfacelo de la nalga en el sitio de la inyección.

Alergias clínicas. Las alergias clínicas son trastornos que comprenden estados como el asma, fiebre del heno, urticaria, eczema y diversas idiosincrasias para alimentos y drogas. Las diferencias entre estas alergias y la anafilaxia del tipo observado en animales, hizo que Coca propusiera el término *atopia* para designar el estado de hipersensibilidad en el hombre (Coca, Walzer y Thommen, 1931). En la actualidad están de acuerdo la mayor parte de los inmunólogos y muchos especialistas en alergia, en que ésta en el hombre depende de los mismos mecanismos inmunológicos fundamentales que la anafilaxia, a saber, una reacción celular entre un antígeno y el correspondiente anticuerpo específico fijado a la célula; el anticuerpo se desarrolló por contacto previo con el antígeno. La aceptación general de tal tesis sólo fué lograda después de mucho trabajo experimental; los datos pertinentes son revisados en el capítulo II del libro de Urbach y Gottlieb (1946).

El *asma bronquial* es una de las manifestaciones más dramáticas de hipersensibilidad en el hombre; muchos pacientes sufren verdadera invalidez crónica a causa

de la enfermedad y sus secuelas. El término *asma*, que significa literalmente "dificultad para respirar", se aplica con frecuencia a estados como el asma cardíaca en que los síntomas no resultan de hipersensibilidad, sino de insuficiencia cardíaca.

Meltzer (1910) fué el primero en observar la similitud entre el broncoespasmo de pacientes asmáticos y el de los cobayos muertos en choque anafiláctico. El asma fué producida experimentalmente en cobayos por Busson y Ogota (1924), Ratner y col. (1925) y otros muchos investigadores, obligando a los animales a respirar antígenos secos como caspa de caballo y polen de ambrosía.

Los antígenos causantes de asma, en el hombre, pueden ser exógenos, como diversos hongos, polvo y pólenes inhalados, pero los síntomas asmáticos también pueden aparecer cuando el paciente asmático hipersensible ingiere ciertos alimentos o drogas. Los enfermos también pueden sensibilizarse para productos de bacterias no patógenas existentes en sus vías respiratorias; hemos visto un paciente, médico especialista en alergia, con asma por hipersensibilidad a una levadura que estaba presente en su esputo. El último tipo de asma suele denominarse de tipo endógeno.

Los pacientes con asma suelen dar cutirreacciones positivas cuando se les inyecta intracutáneamente solución del antígeno. A los 10-20 minutos, si el paciente es hipersensible, se desarrolla una pápula con seudópodos. Esta hipersensibilidad cutánea puede transferirse pasivamente a otro individuo inyectando por vía intracutánea 0,1 c.c. de suero del paciente hipersensible en la piel de un individuo normal. Después de 24 horas se inyectan en el mismo sitio 0,02 c.c. del antígeno: la formación de una pápula indica que los anticuerpos estaban presentes en el suero. Esta técnica, descrita en 1921 por Prausnitz y Küstner, se denomina *reacción P-K* o de *Prausnitz y Küstner*.

El ataque asmático se puede detener por inyección de adrenalina y los pacientes se pueden desensibilizar por una serie de inyecciones de dosis crecientes del antígeno específico.

La analogía entre el asma humana y la anafilaxia del cobayo es casi completa, excepto por las grandes variaciones individuales que se observan en la primera. Así, un gran porcentaje de la población nunca desarrolla asma, pese a la exposición uniforme a los antígenos productores del asma. En general, la influencia hereditaria es muy importante en las alergias clínicas, por cuanto los pacientes heredan la constitución que los predispone a reaccionar violentamente con un antígeno del medio. El descendiente de un asmático no hereda necesariamente la enfermedad, pero hereda de la estructura constitucional, que puede expresarse como fiebre del heno, urticaria, u otro tipo de alergia clínica.

La *fiebre del heno* es un trastorno alérgico agudo que afecta la mucosa de la nariz y bronquios y también las conjuntivas. En la mayor parte de los casos, los agentes causales son pólenes de pastos, malezas, árboles y arbustos, pero ocasionalmente puede ser causada por substancias como el polvo casero y la raíz del lirio de Florencia usada como base de la mayor parte de los polvos faciales. La enfermedad suele ser estacional y está relacionada de una manera clara con la época de polinización de las plantas o hierbas cuyo polen contiene los antígenos específicos.

En el intervalo entre las estaciones, los síntomas de la fiebre del heno pueden producirse en una víctima de la enfermedad, colocándole una cantidad minúscula de polen específico en la nariz.

Las pruebas cutáneas del tipo de la pápula inmediata, y la transmisión pasiva de los anticuerpos por la técnica de P-K, son uniformemente positivas; también se han demostrado anticuerpos fijadores del complemento (Hensel y Sheldon, 1941). La desensibilización se puede lograr por inyecciones crecientes de antígeno.

La fiebre del heno, como el asma, presenta muchos de los aspectos inmunológicos que corresponden a la anafilaxia animal, excepto por sus manifestaciones clínicas. Sin embargo, Ulrich (1918) produjo en cobayos reacciones semejantes a la fiebre del heno, por instilación de polen de ambrosía en la nariz de animales previamente sensibilizados por la misma vía.

La *urticaria (ronchas)* es otra manifestación común de hipersensibilidad en el hombre. Debe subrayarse que la urticaria es un síntoma, y que puede iniciarse por factores como el calor, el frío y la luz, que no son antígenos. La urticaria por hipersensibilidad puede resultar de la ingestión de alimentos y drogas y particularmente de sueros extraños. La urticaria endógena puede resultar de la presencia de ciertos parásitos o bacterias dentro del organismo.

Las pruebas cutáneas para determinar el agente causal, no son tan valiosas en la urticaria como en las alergias referidas anteriormente. La urticaria aguda se puede detener por la adrenalina. Los métodos de desensibilización no se usan en tanta extensión en terapéutica; casi todo el esfuerzo se destina a descubrir el antígeno causal para eliminarlo de la dieta. También se aconseja la administración bucal de drogas como el benadril y la piribenzamina y las inyecciones de histamina-azoproteína o hapamin.

El *edema angioneurótico* es un trastorno mucho más grave que aparece en forma muy repentina y con frecuencia se limita a la cara. Su etiología es similar a la de la urticaria.

La *hipersensibilidad alimenticia* se manifiesta por una variedad de síntomas clínicos que pueden afectar muchos otros órganos además del tubo digestivo. La ingestión del alimento en cuestión puede ir seguida de náuseas, vómitos, diarrea, retortijones y síntomas de indigestión, pero está comprobado que el asma, urticaria, eczema y otras erupciones cutáneas pueden también resultar de la ingestión de alimentos. Las pruebas cutáneas para productos alimenticios son de por sí notoriamente inciertas en este tipo de hipersensibilidad, porque el paciente es hipersensible a productos absorbidos después que el proceso digestivo ha tenido lugar. El antígeno causante se puede buscar recurriendo a dietas de eliminación; el tratamiento consiste en evitar, si es posible, el alimento peligroso. La desensibilización se puede lograr por administración bucal de cantidades mínimas del alimento, aumentándolas gradualmente.

El *eczema* es un tipo de dermatitis que puede ser de causa alérgica resultante del contacto con un antígeno o de su ingestión con los alimentos. El tipo de hipersensibilidad por contacto se considera originado por la presencia de anticuerpos celulares en la piel; la transferencia pasiva se puede lograr por el método de Urbach (1925).

El método usual de indagar la hipersensibilidad por contacto es la *prueba del parche*, que se lleva a cabo colocando una pequeña cantidad de material sospechoso, como tela, sobre un pedacito de esparadrapo y aplicándolo a una zona de piel no afectada.

La *hipersensibilidad a las drogas* debe distinguirse de la intolerancia; el último término indica una respuesta exagerada por parte del organismo para las acciones fisiológicas ordinarias de la droga. Los síntomas de hipersensibilidad a las drogas son en extremo variados; como la hipersensibilidad alimenticia, puede afectar a la piel y producir urticaria, diversos tipos de dermatitis o causar síntomas de las vías respiratorias superiores, como asma y fiebre del heno. Son muchos los fármacos de este tipo, incluyendo opiáceos, salicilatos, barbitúricos, sulfonamidas y los antibióticos penicilina y estreptomicina. La hipersensibilidad a la *sulfonamida* ha sido

revisada por Brown (1943). La hipersensibilidad suele aparecer durante la segunda semana de administración de la droga; el paciente puede presentar fiebre, erupciones cutáneas y trastornos gastrointestinales.

La transmisión pasiva de la hipersensibilidad por medio de suero y líquido vesicular ha sido referida en cuatro pacientes extraordinariamente hipersensibles como consecuencia de la aplicación de sulfonamidas a lesiones cutáneas (Shaffer y col., 1943). La *penicilina* también puede causar reacción por inyección o contacto, pero, por regla general, este antibiótico no suele ser muy antigénico. Se ha observado sobre todo en pacientes con pie de atleta, enfermedad causada por hongos; ello sugiere que la sensibilidad pueda resultar de una reacción cruzada. La hipersensibilidad a la *estreptomicina* se ha referido también en pacientes que recibían una segunda serie de tratamiento (Hinshaw y Feldman, 1945).

Otras alergias. Es imposible estudiar aquí muchos otros fenómenos clínicos que se suponen debidos a hipersensibilidad. Algunos investigadores creen que trastornos como la jaqueca y la neurosis puedan producirse por mecanismo alérgico (Urbach y Gottlieb, 1946).

Hipersensibilidad bacteriana. Mucho de lo que se ha dicho acerca de la hipersensibilidad en los animales es aplicable a este tipo de hipersensibilidad en el hombre, ya que las diferencias en las reacciones de las diversas especies animales no son, por lo general, tan netas como las observadas en el tipo anafiláctico de hipersensibilidad.

En condiciones naturales, la penetración inicial del agente infeccioso en el hombre produce una lesión y probablemente desarrolla cierto grado de hipersensibilidad. Sin embargo, la significación de la hipersensibilidad en Patología varía de un paciente a otro y depende en parte de la naturaleza del agente infectante. Se puede comprender este punto de vista si se acepta que la hipersensibilidad bacteriana y la inmunidad se producen por mecanismos claramente diferentes.

La hipersensibilidad desempeña importante papel en muchas infecciones, particularmente en las de naturaleza crónica, como tuberculosis, brucelosis y micosis, y en ciertos procesos causados por estafilococos, estreptococos y otros microorganismos. En tales casos, las bacterias invasoras permanecen en los tejidos y se adaptan a las defensas del cuerpo. Si los organismos invasores fueran más vigorosos en sus esfuerzos ofensivos, el resultado sería la muerte del animal infectado, o la de las bacterias, según el vigor con que se defendieran las células del organismo. El hecho de que el antígeno de la bacteria pueda causar la muerte de las células hipersensibles, quizá sea el más importante para explicar el cuadro clínico. El bacilo tuberculoso, por ejemplo, no tiene exotoxina ni endotoxina; su poder patógeno depende, en primer término, de su capacidad de mantenerse dentro del cuerpo, de la posesión de grasa insoluble que debe suprimirse por fagocitosis y, lo más importante, de la presencia de proteínas no tóxicas que pueden causar la muerte del tejido hipersensible.

Se dispone de productos para cutirreacciones con el fin de descubrir la hipersensibilidad, en muchos casos son de gran valor diagnóstico en clínica. La técnica de las diversas pruebas cutáneas y sus interpretaciones, se tratarán en capítulos aparte.

Los problemas de la desensibilización como método terapéutico están siendo estudiados con interés creciente desde que se demostró en animales que la hipersensibilidad se puede suprimir sin disminuir la inmunidad. Hemos usado la desensibilización terapéutica en ciertas micosis generalizadas durante los últimos quince años (Martin y Smith, 1939).

El mecanismo de la desensibilización no ha sido explicado satisfactoriamente, pero en algunas infecciones los efectos beneficiosos de tal terapéutica han sido es-

tablecidos en forma indudable. Es difícil comprender por qué no se desensibilizan espontáneamente las personas con infecciones crónicas. Se ha sugerido que las inyecciones en un sitio diferente del de la lesión pueden tener un efecto diferente del producido por los microorganismos a nivel de ésta.

Se ofrece como posible explicación la hipótesis siguiente: como se ha demostrado que la hipersensibilidad bacteriana va asociada con una lesión y con células inflamatorias, no es absurdo suponer que las zonas de necrosis de los tejidos, producidas como resultado del contacto de la bacteria con los tejidos hipersensibles, creen nuevas zonas de alteración, en las cuales se pueden desarrollar más anticuerpos hipersensibles. En la forunculosis estafilocócica recidivante, por ejemplo, existe inmunidad suficiente para evitar la invasión de la corriente sanguínea y la muerte del paciente. Si la hipersensibilidad resulta de absorción de antígeno en la zona inflamada, se requerirá menor cantidad de antígeno para iniciar una segunda lesión, la cual, a su vez, servirá como foco secundario para el desarrollo de mayor hipersensibilidad, iniciándose así un círculo vicioso. Sin embargo, si las vacunas se pueden administrar en forma de antígenos parciales o en dosis suficientemente diluídas, no es imposible admitir que puedan lograr una desensibilización benéfica para el organismo. En tal terapéutica deben tomarse las mayores precauciones para evitar la introducción de organismos en número suficiente para lesionar los tejidos y establecer así otra zona en la cual el tejido necrótico podría servir como coadyuvante para aumentar la hipersensibilidad.

BIBLIOGRAFIA

Arthus, M. *Arch. internat. de Phys.*, 1908-09, 7:471.
Auer, J., and Lewis, P. A. *J.A.M.A.*, 1909, 53:458.
——— *J. Exper. Med.*, 1910, 12:151.
Brown, E. A. *Ann. Allergy*, 1943, 1:164.
Busson, B., and Ogata, N. *Wien. Klin. Wchnschr.*, 1924, 37:820.
Chase, M. W. *Proc. Soc. Exper. Biol. & M.*, 1945, 59:134.
Coca, A. F. *J. Immunol.*, 1919, 4:209, 219.
——— Walzer, M., and Thommen, A. A. *Asthma and Hay Fever in Theory and Practice*, 1931, Charles C. Thomas, Springfield, Ill.
Code, C. F. *Am. J. Phys.*, 1939, 127:78.
Coffin, G. S., and Kabat, E. A. *J. Immunol.*, 1946, 52:201.
Dale, H. H. *J. Pharm. & Exper. Ther.*, 1912-13, 4:167.
——— and Hartley, P. *Biochem. J.*, 1916, 10:408.
Dienes, L., and Schoenheit, E. W. *Am. Rev. Tuberc.*, 1929, 20:92.
——— *J. Immunol.*, 1930, 19:41.
Dragstedt, C. A. *Phys. Rev.*, 1941, 21:563.
——— Ramirez, M., and Lawton, A. H. *Science*, 1940, 91:617.
Fell, N., Rodney, G., and Marshall, D. E. *J. Immunol.*, 1943, 47:237, 251.
Follis, R. H., Jr. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1938, 63:283.
Freund, J., Stern, E. R., and Pisani, T. M. *J. Immunol*, 1947, 57:179.
Friedemann, U. *Zeitschr. f. Immunitäts. u. Exper. Ther.*, 1909, 2:591.
Hensel, M. E., and Sheldon, J. M. *J. Lab. & Clin. Med.*, 1941, 26:1586.
Hinshaw, H. C., and Feldman, W. H. *Proc. Staff Meeting Mayo Clinic*, 1945, 20:313.
Longcope, W. T., and MacKenzie, G. M. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1920, 17:133.
Manwaring, W. H. *Zeitschr. f. Immunol.*, 1911, 8:1.
Martin, D. S., and Smith, D. T. *Am. Rev. Tuberc.*, 1939, 39:488.
Meltzer, S. *J.A.M.A.*, 1910, 55:1021.
Opie, E. L. *J. Immunol.*, 1924, 9:231, 247, 255, 259.
Otto, R. *Münch. med. Wchnschr.*, 1907, 55:1665.
Portier, P., and Richet, C. *Compt. rend. Soc. Biol.*, 1902, 54:170.
Prausnitz, C., and Küstner, H. *Centralbl. f. Bakt.*, 1921, 86:160.
Ratner, B., Jackson, H. C., and Gruehl, H. L. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1925, 23:17.
Rich, A. R. *Phys. Rev.*, 1941, 21:70.
——— and Follis, R. H., Jr. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1940, 66:106.
——— and Lewis, M. R. *ibid.*, 1932, 50:115.
Richet, C. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1907, 21:497.

ROSENAU, M. J. and ANDERSON, J. F. *Hyg. Lab. Bull.*, 1906, 21:1.
—— *J. Infect. Dis.*, 1907, 4:552.
ROTHSCHILD, H., FRIEDENWALD, G. S., and BERNSTEIN, C. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1934, 54:232.
SCHULTZ, W. H. *J. Pharm. & Exper. Ther.*, 1910, 2:221.
SHAFFER, B., LENTZ, J. W., and MCGUIRE, J. A. *J. A. M. A.*, 1943, 123:17.
SHWARTZMAN, G. *J. Exper. M.*, 1928, 48:247.
SCOTT, W. M. *J. Path. & Bacteriol.*, 1911, 15:31.
ULRICH, H. L. *J. Immunol.*, 1918, 3:453.
URBACH, E. *Arch. f. Dermat. u. Syph.*, 1925, 148:146.
URBACH, E., and GOTTLIEB, P. M. *Allergy*, 1946, Grune and Stratton, New York.
WEBB, R. A. *J. Path. & Bacteriol.*, 1924, 27:79.
WILLIS, H. S., WOODRUFF, C. E., KELLY, R. G., and VOLDRICH, M. *Am. Rev. Tuberc.*, 1938, 38:10.

PARTE III

MICROORGANISMOS PATOGENOS

CAPITULO XVII

INTRODUCCION AL ESTUDIO DE LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS

La enfermedad infecciosa es un caso especial del fenómeno biológico, ampliamente difundido, del parasitismo. La tendencia de una forma de vida a establecerse en otra, es común en todos los grupos de los reinos animal y vegetal. Los parásitos derivados de seres de vida libre, por influencia del medio del huésped, se han modificado gradualmente tanto en forma como en propiedades químicas; con frecuencia se pueden seguir los pasos sucesivos de esta transformación.

Entre las formas más complejas de vida, el desarrollo de una existencia dependiente resulta de siglos de cambio lento que comprende extensas modificaciones anatómicas y funcionales. En las formas inferiores, especialmente los protozoarios y las bacterias, la simplicidad morfológica, la inestabilidad química y la rapidez con que se suceden las generaciones permiten estudiar el parasitismo en forma más fácil, e incluso en muchos casos susceptible de comprobación experimental. En el estudio de la enfermedad infecciosa nos enfrentamos con los fenómenos fundamentales del parasitismo en sus más simples manifestaciones. En Bacteriología se observan todas las gradaciones, desde la forma puramente saprófita hasta las parásitas completas o casi completas, pasando por las formas saprófita y parásita facultativas. Los recientes conocimientos de la variación bacteriana y de las alteraciones químicas que la acompañan, sujetas a experimentación en el laboratorio, constituyen uno de los campos más fructíferos para estudiar la variabilidad del protoplasma. El conocimiento creciente de virus ultramicroscópicos y del bacteriófago, nos acerca cada vez más a los orígenes de la materia viva, y las interacciones específicas de las substancias antigénicas del parásito y las células vivas del huésped, expresadas en la formación de anticuerpos y en el desarrollo de hipersensibilidad, son fenómenos de enorme significado fisiológico, más allá de los problemas médicos o de los puramente bacteriológicos.

El parasitismo no se logra sin resistencia por parte del huésped; es lógico suponer que existe repulsión biológica universal por parte del protoplasma vivo para someterse a la invasión por otra forma de vida. Los animálculos del agua, los huevos de peces, los de rana, todos se desarrollan en un medio pletórico de organismos saprófitos y no son invadidos por ellos, pero si mueren, por congelación repentina, se convierten en medios de cultivo para los seres vivos que los rodean, aun antes que puedan ocurrir alteraciones químicas importantes. Los organismos de los animales superiores están en contacto incesante con innumerables especies de formas vivas diminutas, pero la mayor parte de éstas resultan inocuas y no pueden hacer otra cosa que llevar una existencia frugal a base de las secreciones de las mucosas

y materiales celulares desprendidos. Pero entre estas numerosas variedades, algunas adquieren poder invasor o de formación de toxina que les permite vencer la resistencia de las células vivas. El huésped invadido desarrolla contra tales gérmenes métodos especiales de defensa, y la lucha que resulta se llama enfermedad infecciosa.

El estudio de la agresión por parte de los microorganismos es objeto de la Bacteriología. Los mecanismos de defensa corresponden a la Inmunología. Las dos disciplinas tratan de las reacciones recíprocas del parasitismo y no pueden ser separadas. Como estos procesos representan la acción fisiológica mutua entre una proteína extraña viva y los tejidos de un huésped, las manifestaciones infecciosas sirven de guía para estudiar problemas tan importantes como la anafilaxia y la alergia. El análisis de estas interacciones suministra bases racionales para comprender lo esencial de diversas enfermedades infecciosas, descubre métodos de diagnóstico y pronóstico y conduce al desarrollo de terapéutica y profilaxis activas y pasivas. Tales investigaciones constituyen el acceso lógico a los problemas clínicos particulares, y son de igual importancia para el estudio de la epidemiología y la higiene pública.

En la evolución de las enfermedades infecciosas, como en todos los fenómenos biológicos, hay un número casi infinito de variables que modifican el resultado final. Aunque hay ciertos principios fundamentales aplicables a todas las infecciones, cada una debe ser estudiada separadamente, porque cada enfermedad específica representa un tipo particular de parasitismo.

Hay muchas bacterias que siempre están en contacto con la piel y mucosas del hombre y de los animales, y que por adaptación perfecta a las condiciones encontradas en tales medios no adquieren propiedades invasivas o tóxicas. Así ocurre con los organismos intestinales de los grupos coli y afines, diversas variedades de bacilos, espirilos y cocos de la boca, nariz y conjuntivas y muchos otros elementos de la llamada "flora normal" de estas regiones. Tales bacterias sólo son patógenas cuando, por alguna razón extraña, muere el tejido y pueden penetrar en el cuerpo del huésped.

Hay otros microorganismos, como los de los grupos tífico y disentérico, el vibrión colérico, el bacilo del carbunco y elementos invasores entre los bacilos anaerobios, que parecen ser extraordinariamente resistentes cuando viven fuera del organismo; durante tales existencias de saprófito conservan la capacidad invasora característica que se manifestará siempre que lleguen de nuevo en contacto con un huésped susceptible por la vía para la cual están adaptados. Hay otros invasores agudos, como los neumococos y estreptococos, dotados de tal capacidad de variación, que no son tanto las características de la especie como las cualidades de la cepa particular las que determinan el poder de invasión o la virulencia. Tales fluctuaciones en la agresividad se determinan por la historia biológica próxima anterior de la cepa en cuestión.

La agudeza o cronicidad de una infección son consecuencia directa del grado al cual se ha llegado en la adaptación mutua. En enfermedades como fiebres intestinales, cólera, infecciones causadas por estreptococos, neumococos, meningococos y otras muchas bacterias, la resistencia aguda por parte del huésped inicia una lucha en la cual el invasor o el huésped dominan la situación. Si el huésped es destruído, el microorganismo, que no ha pasado directamente a un nuevo huésped, vuelve a un medio saprófito, donde la cepa particular puede con el tiempo perder su capacidad invasora. Una infección similar sólo ocurre cuando otra cepa de esta especie, de virulencia adecuada, encuentra un huésped de receptividad análoga. Si el huésped

sobrevive, el invasor puede ser eliminado por completo, o detenido por el desarrollo de la resistencia específica y permanecer latente en los tejidos, imposibilitado para luchar contra este individuo inmune, pero capaz de infectar a otros. Esto lleva a lo que llamamos "estado de portador". Pero también puede suceder, particularmente con estreptococos, neumococos y bacilos diftéricos, que en este prolongado contacto el invasor, retenido por influencia del medio inmune, varíe gradualmente a un estado saprofítico. Tales variantes pueden retener, no obstante, la capacidad potencial para volver al estado virulento; el descubrimiento de este punto constituye uno de los grandes adelantos recientes de la biología bacteriana que promete arrojar mucha luz sobre nuestros conocimientos acerca de la enfermedad y de las epidemias.

Las adaptaciones que se hallan en la base de la cronicidad pueden tomar gran variedad de direcciones. En la sífilis no es dudoso que el paso repetido del invasor de un huésped a otro, durante siglos, sin interrupción del modo parásito de vida, ha llevado a una adaptación tan estrecha que se aproxima a un alto grado de tolerancia mutua. La enfermedad parece haberse hecho menos aguda en el curso de cuatro siglos; las reacciones protectoras e inmunológicas del huésped infectado son lentas y débiles. No es imposible que la dirección del desarrollo biológico en esta enfermedad tienda hacia un estado de casi comensalismo, como el que caracteriza a ciertas infecciones por tripanosomas y espiroquetas en los roedores o a la infección por sarcosporidios de los ratones, casos en los que podemos hablar de "infección sin enfermedad". En todas estas relaciones una fina graduación de tolerancia mutua determina los grados de reacción, de daño y de resistencia.

Una forma de cronicidad que depende de otros principios es la que se observa en la tuberculosis, la lepra y algunas micosis. Aquí se trata probablemente no tanto de la tolerancia establecida, sino de la naturaleza química insoluble del invasor que actúa más a la manera de un cuerpo extraño irritante que de un agresor tóxico que se extienda rápidamente. Además, están los factores de desarrollo lento característicos de los invasores y una resistencia relativamente alta desarrollada por selección natural entre las comunidades civilizadas. Así, por ejemplo, cuando la tuberculosis ataca a niños muy jóvenes o nativos de razas hasta entonces aisladas, puede asumir caracteres relativamente agudos. En la respuesta defensiva para cada una de estas variedades de parasitismo el huésped desarrolla reacciones de tipo tan complejo como las fuerzas invasoras. Para todos ellos es fundamental la producción de anticuerpos para los constituyentes proteínicos del parásito y la respuesta celular que se manifiesta por tipos especiales de inflamación. Estas reacciones son tan características de la anatomía patológica de cada enfermedad, como los daños tisulares directos e indirectos producidos por el invasor. Por esta razón, la naturaleza de una infección puede ser con frecuencia reconocida por el desarrollo de la respuesta específica, formación de anticuerpo o el tipo de reacción celular consecutivo. En la mayor parte de las invasiones crónicas, la reacción celular puede recordar el mecanismo observado en la eliminación de cuerpos extraños.

De estos ejemplos parece desprenderse que, en el parasitismo que constituye la infección, son posibles reacciones de amplios límites.

El conocimiento fundamental de estas variaciones es esencial para el médico que se ocupa de enfermedades infecciosas. Debe familiarizarse con los puntos habituales de ataque, el tipo de difusión subsiguiente y las reacciones fisiológicas y patológicas del sujeto invadido; todo ello le sirve de guía para el diagnóstico, el pronóstico y la terapéutica específica. Tal conocimiento lo capacita, sobre todo, para juzgar cómo y cuándo la técnica especial del bacteriólogo le puede ayudar en cualquiera de estas cuestiones. En un número creciente de situaciones observadas

en clínica, tal cooperación es esencial para la práctica de la Medicina. La gravedad de la enfermedad, el daño permanente hecho e incluso la misma recuperación pueden depender con frecuencia de la precisión y rapidez con que la sagacidad clínica va seguida del diagnóstico por cultivo y la terapéutica específica adecuada. En casi todas las infecciones los análisis bacteriológicos y serológicos exactos suministran las premisas para el tratamiento racional, específico o no, la determinación de la susceptibilidad para los contactos, la profilaxis, la liberación de la cuarentena y para todas las numerosas funciones en las cuales los médicos bien entrenados forman las avanzadas en la protección de la salud pública.

INFECCION EN MASA

De importancia aun mayor para el bienestar de la Humanidad que el estudio de las infecciones individuales, es el de los fenómenos de las infecciones en masa o epidemias. Al intentar investigar las condiciones que rigen la aparición, el curso y el dominio de la enfermedad epidémica, nos enfrentamos con las dificultades adicionales de tener que interpolar los factores de un medio complejo dentro de las reacciones entre el invasor y el huésped.

Si fueran las epidemias simples consecuencias de la aparición de una fuente de infección en una comunidad susceptible, el problema sería relativamente claro. Tales relaciones simples de causa a efecto han gobernado en ocasiones los brotes tempestuosos de nuevas enfermedades —sarampión, influenza, tuberculosis, poliomielitis, etc.— entre aborígenes que por primera vez se ponen en contacto con lo que se denomina el "mundo civilizado". Pero prácticamente todas las comunidades humanas pueden ser consideradas, para emplear un término usado por Topley, como "multitudes infectadas", en las cuales están constantemente presentes las fuentes potenciales de todas las infecciones conocidas.

Estas fuentes potenciales de infección pueden ser de varias clases. Las menos peligrosas son los casos esporádicos reconocidos. Las más peligrosas son los casos atípicos no reconocidos que llevan un curso tan leve que el contacto con otros nunca se impide por vigilancia o por incapacidad. Además, hay muchos individuos cuya resistencia natural o adquirida es tal que pueden alojar y transmitir un agente infeccioso sin presentar en ningún momento signo alguno de enfermedad. La persistencia de microorganismos virulentos en tales individuos y en los convalecientes constituye el *estado de portador* "sano" o "convaleciente". En muchos portadores puede tener lugar, en proporción diferente según las infecciones, la variación gradual de las bacterias a formas "rugosas", por influencia de la inmunidad del huésped. En número considerable, sin embargo, los organismos retienen su virulencia durante largos períodos, a veces de manera permanente. Casi en todas las comunidades existen portadores de bacilos tíficos, paratíficos, diftéricos y disentéricos, de meningococos y del virus de la poliomielitis; hay en todo tiempo muchos portadores de estreptococos hemolíticos y de neumococos virulentos de diversos tipos. Los porcentajes de cada tipo de portadores varían según la localización, estación y condiciones especiales de higiene; pero la comunidad nunca está libre de ellos. A los portadores y a los casos no reconocidos se deben en gran parte los casos esporádicos de enfermedad que persisten en los períodos interepidémicos. En el caso de las infecciones de tipo intestinal, donde las epidemias por alimentos y agua están desapareciendo bajo la influencia de las medidas sanitarias, tales portadores constituyen el obstáculo para el dominio completo de las enfermedades correspondientes.

Además de los reservorios humanos que suministran fuentes de infección, hay casos en que el agente infeccioso persiste en animales y en insectos.

Como se puede demostrar que constantemente existen focos innumerables, desde los cuales microorganismos muy virulentos pueden ser distribuídos, y, por otra parte, hay una serie continua de casos esporádicos indicadores de que el contacto con estas fuentes pueden producir la enfermedad, cabe concluir que la ausencia de frecuentes brotes epidémicos debe ser debida, en parte, al desarrollo de cierta resistencia por la comunidad.

Antes de proceder a estudiar este factor, será útil delinear los diversos *mecanismos de transmisión* por los que las infecciones pueden pasar de una fuente de material virulento a un nuevo huésped.

Este mecanismo determina hasta cierto punto si una enfermedad dada asumirá o no proporciones epidémicas. Conociendo el mecanismo de transmisión, la capacidad para la supervivencia de los microorganismos fuera del huésped y la posible necesidad de huéspedes intermediarios, es posible deducir las influencias ambientales que favorecen o impiden la infección epidémica. Desde este punto de vista, podemos considerar en las infecciones, las siguientes subdivisiones:

1. Infecciones en las que la transmisión ordinariamente sólo ocurre como resultado de contacto traumático directo con material infectado. Este es el caso de las infecciones quirúrgicas causadas por micrococos, estreptococos, bacilos anaerobios y, generalmente, por los bacilos del carbunco y del muermo. Para tales casos no existen epidemias, excepto en grupos que por su ocupación se hallan constantemente en contacto con los materiales infecciosos.

2. Infecciones por contacto no necesariamente traumático. En esta clase se incluyen las enfermedades venéreas —sífilis, gonorrea y chancro blando—. Es evidente que no obstante los muchos casos que pueden encontrarse de tales enfermedades, éstas siempre resultan de contacto físico o corporal directo y no pueden llegar a constituir epidemias en el verdadero sentido de la palabra.

3. Infecciones adquiridas por las vías respiratorias. Comprenden gran número de verdaderas enfermedades epidémicas como el catarro común, neumonías, influenza, meningitis, difteria, escarlatina, tuberculosis, viruela, sarampión, paperas, varicela y poliomielitis. El modo de transmisión indica que este tipo de enfermedad es el más difícil de dominar.

4. Enfermedades denominadas infecciosas intestinales, debido a que la adaptación parasitaria es tal que el huésped solamente es invadido si los órganos ganan acceso al tubo digestivo. Esto no significa necesariamente que todo el curso de la enfermedad subsecuente esté confinado en el intestino. Este es el caso del cólera, de las disenterías y de la mayor parte de las diarreas infecciosas. Pero en las fiebres tíficas y paratíficas, después de que ha tenido lugar la multiplicación intestinal inicial y las lesiones locales, las bacterias penetran en la corriente sanguínea y la invasión es general. Con todo, las bacterias alcanzan siempre el mundo exterior con las excreta (principalmente las heces, algunas veces la orina) del enfermo y del portador. En el grupo tifo-parasitario, los portadores son numerosos, frecuentemente crónicos, en muchos casos permanentes. En las disenterías, la proporción de convalecientes portadores persistentes puede alcanzar a más del 2%. El estado de portador en las infecciones intestinales no está, por razones obvias, sujeto a fluctuaciones estacionales, como ocurre con los invasores respiratorios.

Claro está que las epidemias de infecciones intestinales sólo pueden tener lugar cuando el material infeccioso proveniente de un enfermo o de un portador alcanza alimentos comunes (leche) o el suministro de agua. Esto puede ocurrir por conta-

minación directa, fecal o urinaria. Pero como las diversas bacterias de este grupo pueden sobrevivir en los medios naturales —agua, alimentos, tierra, alcantarillas— durante períodos variables según la temperatura, la humedad, el medio nutritivo y la competencia de gérmenes saprófitos, el ciclo de transmisión puede ser indirecto. Este ciclo de transmisión puede tomar las formas de: *a)* huésped a huésped (heces-dedos); *b)* heces-alimento o agua; *c)* heces-dedos-alimento; *d)* heces-moscas-alimento.

El problema de la prevención de las infecciones intestinales resulta más sencillo que en el caso de los procesos respiratorios. Los suministros de agua, leche y alimentos pueden ser protegidos, y lo han sido en gran extensión, de la contaminación fecal. El acceso de moscas a las materias fecales puede impedirse, y las personas que manipulan alimentos pueden ser examinadas para descubrir el estado de portador, siempre que el estudio sanitario de un caso determinado permita la sospecha en tal sentido. Es imposible en absoluto establecer todas estas salvaguardias costosas en comunidades aisladas o pobres; aun en las bien organizadas, el problema cada vez creciente de los portadores persiste como amenaza permanente. Por fortuna, en la mayor parte de las enfermedades mencionadas se puede disponer de métodos para aumentar la resistencia de la comunidad, por inmunización activa en gran escala. Los brotes epidémicos, algunas veces son debidos a que no se aplican debidamente los conocimientos adquiridos.

Las diferencias en el problema sanitario dependientes de la transmisión, se ilustran bien por el hecho de que en los acantonamientos del Ejército norteamericano en 1917, el recluta tuvo cuarenta y cinco veces menos probabilidades de contraer una infección intestinal que la que habría tenido como miembro del mismo grupo de edad en su propia comunidad; las condiciones de vida del campo, por otra parte, aumentaron considerablemente las infecciones respiratorias pese a los bien planeados y competentes esfuerzos para prevenirlas.

5. Enfermedades en las que el agente de infección es un huésped animal desde el cual tiene lugar la transmisión directamente, sin insecto vector. Muchas enfermedades de esta categoría, como rabia, carbunco, muermo, nunca poseen verdadero carácter epidémico. Hay otras diversas afecciones de este grupo, sin embargo, en las cuales los brotes pueden alcanzar proporciones epidémicas debido a que los agentes infecciosos aparecen en la leche. Este es el caso particular de la tuberculosis bovina, y en grado menor, pero creciente, el tipo de fiebre ondulante causada por *Brucella abortus*, germen que probablemente representa una modificación bovina de *Brucella melitensis*. Este último, transportado por la leche de cabra, origina epidemia de fiebre de Malta. No es improbable que muchos casos de fiebre de Malta se hayan infectado por aspiración de polvo en países cálidos y secos donde las cabras suelen ordeñarse en las calles.

Como las ratas con frecuencia están infectadas de *Leptospira icterohaemorrhagiae*, es probable (a juzgar por algunas epidemias circunstanciales) que esta enfermedad pase también (por la orina de las ratas) al hombre. Estos animales alojan también al germen productor de la fiebre por mordedura de rata y la transmiten al hombre, pero esta enfermedad no llega a ser epidémica.

6. Las enfermedades transportadas directamente de un paciente a otro por insectos. Esto es cierto para la fiebre amarilla, paludismo, fiebre de tres días, dengue, enfermedad del sueño africana, fiebre recurrente y algunas otras. Es también lo que sucede en las epidemias de tifo, donde la rápida diseminación de la infección tiene lugar por el piojo. En el paludismo, la infección de nuevos mosquitos por los portadores facilita la supervivencia de los plasmodios. Los mosquitos, pueden, por su-

puesto, sobrevivir de una estación a otra por hibernación, pero se cree que los plasmodios mueren en la hibernación del mosquito por acción de la baja temperatura. Este tipo de transmisión se separa de los considerados en los párrafos 7 y 8 porque, en relación con le epidemiología y la prevención, es muy importante que la fuente de infección del insecto esté limitada al reservorio humano o que se puedan producir nuevos vectores, bien sea a partir de reservorios animales de infección o por herencia de los insectos.

La primera condición para el dominio sanitario en las enfermedades de este grupo es evidentemente el aislamiento de los enfermos para evitar contactos con insectos vectores durante los períodos de la enfermedad en que pueden transmitir el virus. Esto es factible en la mayor parte de las infecciones mencionadas y útil casi siempre, aun en los casos en que el hombre puede llegar a ser reservorio crónico. Otras medidas sanitarias dependen de los hábitos, predominio estacional, lugares de cría, etc., de los insectos en cada caso. Las condiciones son más complejas cuando son varios los insectos interesados.

7. Existe un reservorio animal para la infección del insecto. En el tifus americano, la enfermedad es endémica en las ratas, pasa de una a otra por la pulga y el piojo de rata: de la rata al hombre por la pulga de rata; de hombre a hombre por el piojo del cuerpo y de la cabeza. La rata sobrevive a la infección y puede retener el virus durante largo tiempo, no menor de tres semanas. La pulga puede alojarlo tanto como tres semanas y sobrevivir. El piojo llega a ser infeccioso en siete u ocho días y muere por el virus en diez o doce. Estos hechos determinan la técnica sanitaria. Para el tifus europeo este ciclo no ha sido demostrado todavía, pero la transmisión por el piojo es evidente y el despiojamiento es el remedio heroico para evitarla.

En la peste existe el reservorio de las ratas desde el cual difunde la enfermedad por las pulgas. En la enfermedad del sueño africana algunos datos epidemiológicos circunstanciales señalan la existencia de un reservorio animal; lo mismo cabe decir de otras afecciones que no estudiamos aquí por falta de espacio.

8. El agente infeccioso se trasmite por herencia en el insecto vector. Esto es cierto en el caso de la fiebre de las Montañas Rocosas, posiblemente de sus similares del Este de EE. UU. y de Sudamérica. Las rickettsias de esta enfermedad pasan desde la garrapata materna al huevo y, como lo han señalado investigaciones recientes, también es posible la infección de la descendencia por el esperma de la garrapata paterna.

Lo dicho hasta aquí acerca de la transmisión de infecciones ya permite deducir que el hecho de que una infección pueda o no llegar a ser epidémica, depende en alto grado del tipo de adaptación parasitaria que rige dicha transmisión.

Topley y otros autores han intentado analizar el concepto de resistencia de la comunidad o en masa, y la han considerado dependiente en parte de factores inherentes a los tejidos del huésped y de otros que dependen de las condiciones del ambiente. En lo que concierne a los primeros, poseemos una cantidad considerable de información. En lo que se refiere a los últimos, hay aún mucho que aclarar.

Aunque el aumento racial de la resistencia opera de manera constante por selección natural y ha modificado la gravedad de muchas enfermedades infecciosas, especialmente aquellas que, como la tuberculosis y la sífilis, han infectado a toda la especie humana, no tiene gran valor en este caso. El hombre, como cualquier otra especie animal, se caracteriza por grados determinados de susceptibilidad que varían para los diferentes agentes infecciosos. Con estas susceptibilidades nace cada niño. Al principio puede estar protegido en cierta medida por inmunización pasiva a través de la placenta. Cuando ésta desaparece, la susceptibilidad inicial puede conver-

tirse en resistencia relativa, o aun en inmunidad, con los años por infecciones, inmunización, cambios fisiológicos y estructurales, regidos por las glándulas de secreción interna y también por cambios en las normas de dieta, incluyendo ciertas vitaminas.

Esta resistencia se debe incuestionablemente, en parte, a inmunización activa fortuita —aun sin enfermedad evidente—, posiblemente por infecciones leves inaparentes y por el estado de portador. En la difteria y en la escarlatina tenemos pruebas directas de ello por la mayor frecuencia de pruebas de susceptibilidad positiva en grupos rurales, comparados con los urbanos. En el caso de la tuberculosis, la infección precoz, leve, es casi universal y protectora.

En otro grupo de enfermedades, como influenza, viruela, sarampión, paperas y muchas otras, la susceptibilidad normal del hombre es tan intensa que la infección sin enfermedad manifiesta es excepcional. Si no fuera por la vacunación, la viruela seguiría causando pavor como en tiempos pasados. El sarampión y las paperas, más leves en la infancia, se adquieren casi invariablemente cuando se ha estado expuesto al contagio. Estas son enfermedades de los niños solamente, porque son adquiridas al principio de la vida en las comunidades aglomeradas. Cuando se exponen a ellas individuos adultos de zonas rurales, como en el ejército, se originan epidemias. La inmunidad relativa de los habitantes de regiones en las cuales existe tifus o fiebre amarilla, suele ser debida al hecho de que en la juventud han padecido ataques leves.

En la neumonía la resistencia natural del hombre es relativamente alta. Los organismos virulentos prevalecen ampliamente durante las estaciones invernales, pero ocurren relativamente pocos casos de enfermedad. El individuo adquiere la neumonía cuando la presencia de los organismos coincide con influencias que deprimen la resistencia. Cuando ello ocurre en gran escala —como en los campos de trabajo o del ejército— resultan las epidemias. En tales casos el brote de infección en masa depende de las influencias ambientales anormales que suprimen una resistencia natural elevada. Se ignora si esta resistencia es constitucional o adquirida por los inevitables contactos frecuentes con los neumococos en el curso de la existencia ordinaria; no se sabrá hasta que conozcamos mejor la inmunidad para el neumococo en general.

En la meningitis, las epidemias ocurren siempre que gran número de individuos susceptibles se juntan en condiciones sanitarias y de hacinamiento que favorecen el aumento del número de portadores. Las condiciones que gobiernan la resistencia en la meningitis son peculiares y no se comprenden con claridad. Hay siempre muchísimas más fuentes portadoras que casos, aun en las grandes epidemias; parece haber un considerable aumento de la proporción de portadores en las fases preepidémicas. En los períodos interepidémicos, cuando la meningitis ocurre esporádicamente en uno u otro lugar, es principalmente enfermedad de la infancia.

Cuando se alcanza la vida adulta se desarrolla una resistencia considerable; la distribución de casos en las epidemias es tal, aun en las aglomeraciones de los campos del ejército, que nos vemos forzados a concluir que sólo algunos de los expuestos enferman. A diferencia de las circunstancias que se dan en la neumonía, la cuestión de la disminución del grado de resistencia por falta de higiene, exposición, exceso de trabajo, etc., juegan poco o ningún papel. Los más saludables y los más fuertes son tan comúnmente atacados como los endebles y debilitados. Hasta el presente no se puede decidir si la inmunidad que protege a una gran proporción de los individuos expuestos es adquirida por un estado anterior de portador o si es constitucional no específica. Además, carecemos de medios para apreciar el grado en el cual

las fluctuaciones de virulencia de las cepas de meningococo modifican estas condiciones, porque no hay un buen método con el cual medir experimentalmente la virulencia de un meningococo para el hombre. Que la virulencia bacteriana puede jugar cierto papel lo sugieren los casos ocasionales en los cuales un portador de mucho tiempo enferma de manera típica. En este caso, como en la difteria, la difusión de las epidemias parece estar favorecida principalmente por la acumulación de un gran número de portadores y por condiciones de hacinamiento que facilitan la diseminación de las bacterias de persona a persona.

En la difteria podemos medir la virulencia de las cepas del microorganismo, así como la susceptibilidad de los individuos expuestos. Estudios análogos a los citados para la meningitis, han demostrado que los brotes epidémicos de difteria se originan por acumulación de portadores. En la difteria, la susceptibilidad, inmediatamente después del segundo año de la vida, se explica por la desaparición de la inmunidad pasiva conferida por la madre con la sangre placentaria. La reacción de Schick y las determinaciones directas de antitoxina permiten comprobar la inmunidad gradualmente creciente. Esto se debe en parte a inmunización individual activa, pero en parte puede también provenir de inmunidad constitucional no específica. En el Ejército norteamericano, durante la primera Guerra Mundial, en los soldados de veinte a treinta años de edad, alrededor del diez por ciento tuvieron reacción de Schick positiva. Los portadores peligrosos, en tiempo ordinario, representan alrededor de 0,01 por ciento de la población. Son muchos más los que albergan cepas no productoras de toxina, pero se ha demostrado que hay una variación bacteriana gradual en las gargantas de los convalecientes y sólo un porcentaje relativamente pequeño de los infectados con bacilos diftéricos continúan por algún tiempo siendo portadores *virulentos*. La inmunización activa para aumentar la resistencia de la población constituye la solución más natural al problema de la difteria.

En el caso de la poliomielitis, en que la fuente de infección está principalmente en los portadores, los estudios serológicos parecen indicar que una proporción muy grande de adultos han estado en contacto con el virus en una u otra ocasión. Aquí también sólo un ligero porcentaje de la población, aun en epidemias extensas, sufre infecciones manifiestas clínicamente. La base inmunológica de ello es incierta, pero la distribución irregular de los casos durante las epidemias, distribución en la cual son pocos los casos nuevos para los cuales pueden determinarse los contactos con otros precedentes, indica que existen amplias diferencias en la resistencia, no solamente entre niños y adultos, sino aun entre niños de los mismos grupos de edad. En este problema, la investigación de posible inmunidad constitucional se ha proseguido activamente en los últimos años.

Epidemiología experimental. Se ha intentado, principalmente por Webster, Amoss, Topley y Greenwood, establecer las condiciones de las epidemias por análisis experimental. El mejor de los métodos empleados ha consistido en estudiar comunidades de ratones infectados por medios naturales con *Salmonella enteritidis, Salmonella typhimurium, Pasteurella lepiseptica* y otros organismos. Fueron estudiados gran número de ratones reunidos en grupos, en los cuales se había establecido la infección y a los cuales se agregaron ratones normales, variables en número y en diversas circunstancias. Por tales experimentos se ha obtenido mucha información útil.

Si se lleva la infección por método natural a una población de ratones bastante numerosa, sin la adición de normales, y se deja extinguir la epidemia por sí misma, nunca llega a exterminar a todos los animales, puesto que siempre hay supervivientes. Gran número de tales supervivientes están infectados —punto que se puede com-

probar por el hecho de que éstos se pueden utilizar como punto de partida de una epidemia cuando se añaden nuevos ratones al grupo superviviente—. Al proceder así, tiene lugar una segunda onda epidémica, pero en ésta los animales añadidos sufren desproporcionadamente más que los supervivientes del brote anterior.

Los experimentos han demostrado también que se puede mantener una sucesión de ondas epidémicas, por adición persistente, de tiempo en tiempo, de cierto número de ratones normales; estas ondas son más prolongadas y graves cuanto mayor es el número de ratones normales añadidos.

Otra observación muy curiosa, registrada por Topley, es el hecho de que si un gran grupo infectado se separa y divide en cierto número de pequeños grupos, la proporción total de muertes es menor que si se dejan juntos.

Muchos de estos resultados experimentales, aunque inexplicados, pueden tener su paralelo en las epidemias humanas. Nosotros, por ejemplo, hemos observado que cuando una unidad del ejército, en la cual, por proceso natural, se ha extinguido toda epidemia, es dispersada e incorporada a nuevas unidades que también han llegado a estar libres de epidemias, ocurren nuevos brotes. Además, en epidemias como la influenza, aun cuando la enfermedad llega a ser casi universal, hay siempre un porcentaje de individuos que no llegan a infectarse; pero cuando después de dos o tres meses aparece una segunda onda, estos individuos no inmunizados pueden sucumbir.

La epidemiología experimental es la rama más joven de la bacteriología experimental y se puede esperar mucho del método. Por supuesto, resulta casi imposible reproducir con la infección espontánea de grupos normales las muchas variables que deben interpolarse al analizar las condiciones humanas de vida. Además, es muy común que factores individuales como hábitos, dieta y resistencia temporal o hereditaria fluctúen dentro de límites más amplios en el hombre que en los animales de experimentación. Por lo demás, el nuevo método ofrece la única posibilidad establecida por el momento para estudiar los fenómenos no sujetos a otros medios de experimentación, que Topley refiere como "reacciones de la población".

La parte que juega la fluctuación de la virulencia bacteriana en el origen de las epidemias y en la elevación y caída de las ondas epidémicas no se puede valorar con facilidad. Las cepas bacterianas en la Naturaleza o en el huésped se componen de individuos que poseen características diferentes. Amoss encontró, estudiando el neumococo, que los llamados cultivos *puros* en realidad eran compuestos, y que aun un neumococo virulento de tipo I que había sido pasado a través de 190 ratones estaba compuesto de individuos diferentes. Nunca se pudo obtener un cultivo puro de un solo tipo liso o rugoso, excepto por separación mecánica en el laboratorio. Por lo tanto, las especies de organismos, como se les encuentra generalmente, incluyen individuos en diferentes formas de variación bacteriana y diferencias en la virulencia que dependen de las proporciones numéricas entre los organismos "M", altamente virulentos, y las formas "S", menos virulentas; los diferentes medios favorecen la preponderancia de unas u otras. En algunas especies, en particular las de los bacilos gramnegativos usados predominantemente en epidemiología experimental, hay una serie de formas intermedias.

Prácticamente, todos los observadores coinciden en que la influencia del suero inmune específico tiende a variar las formas virulentas en otras menos virulentas y que es mucho más fácil lograr una alteración en esta dirección que en sentido contrario. Tales cambios pueden ocurrir con gran rapidez.

Se ha demostrado repetidamente por muchos investigadores que la transformación de "S" en "M" puede tener lugar tanto *in vivo* como *in vitro*. Cabe, pues,

suponer que en las relaciones naturales de las bacterias con sus medios, *in vivo* e *in vitro*, pueden ocurrir cambios de poder patógeno en uno y otro sentido. Quedan sólo por definir las condiciones bajo las cuales ocurren estos cambios y en qué direcciones.

Resulta, pues, muy sugestivo, al intentar explicar los fenómenos epidémicos, incluir las alteraciones de la virulencia bacteriana junto con las variables que dependen de las alteraciones de la susceptibilidad del huésped, etc. Pero los epidemiólogos experimentales han obtenido resultados según los cuales la fluctuación de la virulencia bacteriana tiene poca o ninguna influencia sobre el curso, el principio o el cese de cada epidemia en particular.

Webster parece haber hecho todo lo posible con una población de ratones para aclarar esta cuestión. Ha comprobado que en tales epidemias los bacilos tíficos del ratón son igualmente virulentos si se toman de la sangre del corazón de casos agudos o de septicemia crónica —esto es, precoz o tardíamente en la enfermedad—. No hubo diferencia en la virulencia del bacilo tífico del ratón, un bacilo Friedländer u organismos del cólera de las gallinas, tomados de casos mortales o de portadores; tres cepas de *S. typhimurium* fueron igualmente virulentas, tanto las tomadas de una fuente aguda como las obtenidas de las heces de los supervivientes sanos. Además, las cepas recogidas en diversas endemias y en períodos epidémicos de la enfermedad del ratón no presentaban diferencias en la virulencia. Tanto Topley como Webster encontraron que las características de la epidemia particular dependían ampliamente de la virulencia de los organismos; parece demostrado que los organismos virulentos pueden tener alto poder mortífero, pero poca capacidad para persistir en los tejidos de los supervivientes, mientras que otras cepas de virulencia menor y que tienden a hacerse endémicas, tienen una tendencia mayor a persistir y diseminarse aunque no sean mortíferas.

Solamente hay un hecho en los resultados experimentales que parece demostrar la influencia de los cambios de virulencia en cada brote epidémico particular. Es la experiencia de Topley y Greenwood con *S. typhimurium*, en la cual la virulencia del organismo aislado entre los 28 y 60 días de la epidemia era unas cinco veces mayor que la del cultivo original.

Otra observación en estas investigaciones apoya el mismo punto de vista, y es el siguiente: cuando una población de ratones se ha recuperado y ha empezado una nueva epidemia por adición de individuos infectados y acumulación gradual de ratones normales, un porcentaje considerable de supervivientes del brote original sucumben ahora. Esto es algo difícil de explicar simplemente por la dosificación, ya que los supervivientes de la primera onda deben haber estado sujetos a una dosis acumulada en ese tiempo y debería haberse desarrollado una inmunidad considerable al tiempo de la segunda exposición. Debe considerarse a este respecto que la supuesta dosificación acumulativa, como el resultado de la presencia de muchos individuos infectados, es más probable que ocurra en los ratones enjaulados que en las epidemias de comunidades humanas. Dudley, como hemos mencionado anteriormente, ha hecho una observación casi análoga con difteria e influenza en los campos militares, donde encontró que los soldados relativamente inmunes se infectan "con mayor frecuencia cuando se mezclan con las clases jóvenes más susceptibles", de lo cual deduce un "acrecentamiento de la virulencia por pase a través del material menos resistente".

Morbilidad y mortalidad. Stallybrass señala que el número de casos mortales de neumonía es mayor en el momento de su mayor prevalencia y que esto también ocurre en otras enfermedades. Sus estudios sobre la mortalidad en la difteria y

escarlatina en Liverpool desde 1900 a 1915, computados por un método análogo al que se usa para calcular la proporción de casos mortales, demuestran que el efecto de la edad sobre la mortalidad quedaba eliminado y que había una indicación neta de la fluctuación de los organismos invasores. Sus tablas sobre relación entre densidad de población y casos mortales en la escarlatina y en fiebres entéricas, indicarían asimismo una relación entre mortalidad y transmisión más rápida.

Sin duda hay muchos brotes epidémicos en los cuales la proporción de casos mortales no sube y baja paralelamente a la morbilidad. Refiriéndose al problema que hemos bosquejado, el profesor E. B. Wilson ha aplicado el análisis matemático a una epidemia hipotética en la cual se hizo una suposición de virulencia fluctuante, como sigue: En una población cerrada, un individuo introduce una infección cuya virulencia, medida por la proporción de casos mortales, disminuye progresivamente en cada fuente de infección, en plazo de cuatro días. En otras palabras, se trasmite una cepa que causa una mortalidad de 0,8 por dos días, de 0,4 para el tercer día y de 0,2 para el cuarto día. La proporción de contacto diario se mantiene constante en 0,0002. Los cálculos de morbilidad y mortalidad sobre esta base resultaron en curvas que demostraban un paralelismo comparable al observado en muchas epidemias reales.

Además de los factores ya considerados que modifican las epidemias, hay gran número de otras variables, algunas de importancia considerable, según la complejidad de vida de la comunidad. Las variaciones en los hábitos de higiene personal, de alojamiento, higiene pública y clima, ejercen naturalmente efectos importantes sobre la diseminación de la enfermedad, pero no pueden estudiarse con amplitud en este breve capítulo.

Estas materias serán tratadas con extensión en las secciones dedicadas a las enfermedades correspondientes.

Una materia que ha sido muy discutida y sobre la cual se ha llevado a cabo mucho trabajo experimental, es la influencia de la dieta. Es bien sabido que la depresión de la resistencia en masa en tiempos de hambre juega un enorme papel aumentando la mortalidad epidémica. La asociación de carestía con epidemia de tifus es ejemplo clásico. Se han hecho muchos esfuerzos, especialmente desde que el conocimiento de las vitaminas ha mejorado nuestra comprensión de la fisiología de la dieta, para analizar estas influencias de manera más o menos precisa. Se han publicado muchos estudios experimentales en los cuales la deficiencia de una u otra de las vitaminas esenciales se ha creído responsable de la disminución de resistencia para infecciones específicas. La antigua observación concerniente al efecto del aceite de hígado de bacalao en la tuberculosis fué el punto de partida para muchas de estas investigaciones.

Hay también en las infecciones en masa o de grupos de población muchos factores para los cuales cada individuo reacciona de manera diferente por razones que no sabemos explicar. La tendencia actual, sin embargo, de estudiar las epidemias experimentalmente y aplicar métodos de análisis biológicos, justifican la esperanza de que esta rama de la investigación bacteriológica avance rápidamente en los años venideros.

No es posible estudiar aquí en detalle los métodos que permiten mitigar o dominar la infección en masa. Esto se ha hecho con cierta extensión en las secciones que tratan de cada enfermedad; es evidente que no hay dos afecciones que requieran iguales medidas. De los hechos referentes a transmisión se pueden deducir los métodos para interrumpir el paso de un organismo virulento desde la fuente a nuevos huéspedes. Para el logro de esta tarea la cooperación de bacteriólogos, administrado-

res, ingenieros, entomólogos y versados en estadística, es esencial para ayudar a quienes se dedican a la práctica de la Medicina.

BIBLIOGRAFIA

TOPLEY and WILSON. *Principles of Bacteriology and Immunity*, 1946, 3rd ed., Williams and Wilkins Co., Baltimore.
ZINSSER, H., and WILSON, E. B. *J. Prev. Med.*, 1932, 6:497.

CAPITULO XVIII

MICROCOCOS (ESTAFILOCOCOS)

Familia: *Micrococcaceae* Pribram.
Géneros: *Micrococcus, Gaffkya, Sarcina*

La infección estafilocócica es primariamente una enfermedad del hombre. Cada tejido y cada órgano son susceptibles de invasión por estos cocos; el trastorno resultante se caracteriza por inflamación, necrosis y formación de abscesos. La infección varía desde los pequeños granos de la piel hasta las piemias casi siempre mortales. Excepto para el tipo estafilocócico de impétigo, la enfermedad es esporádica, no epidémica.

Los estafilococos fueron identificados en el pus por Pasteur en 1880 y por Ogston en 1881. Aunque Becker fué el primero en obtener el organismo en cultivo puro, el trabajo clásico de Rosenbach en 1884 sentó las bases de nuestros conocimientos para este grupo de micrococos.

Los micrococos comprenden los aerobios, también anaerobios facultativos, *Staphylococcus aureus, Staphylococcus albus, Staphylococcus citreus,* y los anaerobios estrictos *Staphylococcus aerogenes, Staphylococcus anaerobios* y *Staphylococcus asaccharolyticus. Micrococcus tetragenus* tiene un pequeño grado de poder patógeno, pero *Sarcina lutea* y las especies de otros géneros de micrococos no son patógenos.

STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Género: *Micrococcus* Cohn. Especie: *Micrococcus pyogenes* var. *aureus* (Rosenbach) Zopf

Gran número de bacterias patógenas pueden provocar inflamaciones purulentas y seropurulentas y abscesos localizados en el hombre y en los animales. La mayor parte de las infecciones bacterianas, en las cuales la virulencia del agente y la resistencia del sujeto están equilibradas y se producen localizaciones temporales o permanentes del proceso, pueden acompañarse de la formación de pus. Sin embargo, casi todos los procesos purulentos agudos y subagudos son causados por los miembros de un grupo bien definido de bacterias denominadas cocos piógenos. Entre éstos, con importancia destacada, están los *estafilococos.*

Staphylococcus aureus. Se halla en la piel y particularmente en las mucosas de la nasofaringe del hombre (Gillespie y col., 1939; Miles y col., 1944). Los organismos son diseminados con el aire, en gotitas de saliva por la tos y estornudo, y aun por la conversación ordinaria. Wells y Wells (1936) y Hart y col. (1939-41) han demostrado que el aire de toda habitación donde se ha congregado cierto número de personas durante varias horas contiene estafilococos potencialmente patógenos.

Morfología y tinción. *Staphylococcus aureus* constituye esferas típicas, aunque un lado puede estar algo aplanado, cuando se agrupan en racimos irregulares que dan al organismo su nombre genérico (fig. 37). El diámetro medio de la esfera

es de 0,8 μ, pero en ocasiones algunos gérmenes o toda la cepa pueden variar entre los límites extremos de 0,4 a 1,2 μ. En los frotis de pus se ven los cocos aislados, a pares, en racimos y aun en cadenas cortas. Los racimos irregulares se encuentran de manera característica en los frotis de cultivos desarrollados en medios sólidos. En los cultivos en caldo es tan frecuente observar cadenas cortas y diplococos, que de ordinario es imposible distinguir, únicamente por su morfología, entre estafilococos y estreptococos.

Los estafilococos *no son móviles*, si bien pueden presentar intenso movimiento browniano cuando se examinan en gota pendiente. No *forman esporas;* generalmente *no tienen cápsulas*, excepto a veces en cultivos en caldo muy jóvenes, de cuatro a seis horas. Estos cocos se tiñen fácilmente con colorantes básicos y ácidos y son *grampositivos*, pero puede haber formas gramnegativas en el centro de los racimos, en organismos fagocitados por células y en cultivos viejos desecados (Winslow, Rothberg y Parsons, 1920).

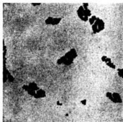


FIG. 37. STAPHYLOCOCCUS AUREUS. Tinción de Gram, × 1200

Caracteres de cultivo. Las cepas de estafilococos de laboratorio se desarrollan igualmente bien en medios a base de extracto de carne o de infusión de carne a temperatura de 37° C. La temperatura óptima para el desarrollo es alrededor de 35° C., aunque el desarrollo se produce fácilmente a temperaturas tan bajas como 15° C. y tan altas como 40° C.

El desarrollo más característico e intenso ocurre en condiciones *aerobias*, pero los estafilococos son *anaerobios facultativos* y pueden desarrollarse en una atmósfera de hidrógeno. La reacción óptima del medio es de pH 7,4.

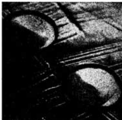


FIG. 38. COLONIAS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS.

En *placas de agar* las colonias suelen ser redondas, de 1 a 2 mm de diámetro, convexas, opacas, brillantes, con borde continuo, blandas, de consistencia de manteca (fig. 38). Las típicas son de color *amarillo dorado*, pero pueden variar de matiz e intensidad. El desarrollo rápido con producción de pigmento ocurre en agar inclinado.

En *placas de agarsangre* las colonias suelen ser mayores; algunas variedades están rodeadas por zonas de *hemólisis*. Los cultivos primarios deben sembrarse por estría con el asa o por vaciamiento en placas de Petri del medio de *agarsangre*. Las colonias jóvenes en la profundidad del medio no desarrollan pigmento; como suelen estar rodeadas por una zona de hemólisis y son extremadamente pequeñas pueden confundirse con colonias de estreptococos hemolíticos beta. Estas colonias deben sembrarse de nuevo en agar común o medio de Löffler e incubarse a la temperatura ambiente, puesto que la producción de pigmento resulta siempre más intensa a baja temperatura.

En *caldo* el desarrollo es rápido, produciendo un enturbiamiento general del medio; después de 48 horas se forma una película superficial. Conforme el desarrollo aumenta, las bacterias se reúnen en el fondo, formando un sedimento mucoide denso. El *olor* de los cultivos viejos con frecuencia es peculiarmente acre, semejando el del ácido butírico.

Bayne-Jones y Zinninger (1921) han comprobado que *no forma indol* en agua y peptona. Los *nitratos* son reducidos a *nitritos*. El tornasol, azul de metileno y rosanilina son decolorados por reducción. Los carbohidratos más sencillos son fermentados con producción de *ácido, sin gas*. Las cepas patógenas, por regla general, fermentan la *manita*.

Chapman (1944) recomienda el uso de agar alcalino con azul de bromotimol con telurito potásico, para aislar los estafilococos de las heces.

Fildes y col. (1936) y Knight (1937) lograron cultivar estafilococos en un medio sintético compuesto de glucosa, sales minerales, 14 aminoácidos, ácido nicotínico y tiamina. La metionina puede ser substituída por la cistina como fuente de azufre orgánico. Más tarde, Kligler y col. (1943) demostraron que el ácido nicotínico era esencial para el metabolismo de la glucosa y que la tiamina actuaba como catalitizador en la oxidación del ácido pirúvico. Mientras se desarrollaban en el medio sintético los organismos sintetizaban riboflavina (O'Kane, 1941) y probablemente todos los demás elementos del complejo vitamínico B no incluídos en él.

Producción de pigmento. Las colonias muy jóvenes siempre son incoloras, pero conforme el desarrollo progresa se elabora un pigmento soluble en alcohol, éter, cloroformo y benzol que ha sido clasificado como *lipocromo*. El pigmento permanece en la colonia y no difunde en el medio, pero su solubilidad en los exudados de los tejidos da al pus y al esputo un tenue color amarillo dorado que debe hacer sospechar la infección por *Staphylococcus aureus*. Los micrococos fueron separados originalmente en especies diferentes según la producción de pigmento. Así, el estafilococo dorado fué denominado *S. aureus*, el blanco *S. albus* y el de color limón *S. citreus*. No se desarrolla pigmento en cultivos obtenidos en condiciones anaerobias; no suele ser abundante en placas de agarsangre incubadas a 37° C., ni en la superficie ni en profundidad. Las colonias transferidas a agar simple o medio de Löffler e incubadas a temperatura ambiente dan lugar a la máxima producción de pigmento. Christie y Keogh (1940) recomendaron un medio de agar con 33 por ciento de leche para estudiar el pigmento.

Las cepas de *S. aureus* suelen ser más patógenas que las de *S. albus; S. citreus* rara vez causa enfermedad. Winslow, Rothberg y Parsons (1920) han comprobado que la producción de pigmento no es característica fundamental de la especie y que suele desaparecer en cultivos repetidos sobre medios artificiales. Las variaciones en producción de pigmento y en poder patógeno están condicionadas por cambios en la fase de la colonia o dependen de variación bacteriana.

Resistencia. Los estafilococos se encuentran entre las bacterias no esporuladas más resistentes. En agar inclinado los cultivos siguen con vida a la temperatura ambiente o en la nevera durante meses. Cuando se secan sobre compresas, papel, paños o en el pus, son viables de 6 a 14 semanas. *Staphylococcus aureus* muere en 15 minutos en fenol al uno por ciento; en 10 minutos, en bicloruro de mercurio al uno por ciento; en tres minutos, en peróxido de hidrógeno al tres por ciento, y en un minuto, por la tintura de yodo. El violeta de genciana (Churchman, 1923) y otros colorantes básicos de trifenilmetano inhiben el desarrollo en caldo a la dilución de 1:2 000 000 y en suero al 1:125 000. La acriflavina, el verde malaquita y el rivanol también son potentes bacteriostáticos y algo bactericidas. En el cuerpo humano,

el suero y los exudados reducen grandemente la eficacia de todos los antisépticos. El alcohol del cincuenta al setenta por ciento requiere sesenta minutos para matar los estafilococos.

Una cepa de *Staphylococcus aureus* que resiste cinco minutos, pero muere en diez con fenol diluído al 1:90, es la que se usa por el centro oficial de los Estados Unidos, denominado *Food and Drug Administration*, como organismo tipo para valorar otros antisépticos. Abraham y col. (1941) emplearon una cepa tipo de *Staphylococcus aureus* para establecer la unidad de penicilina.

Los estafilococos patógenos suelen morir con 0,1 a 1 unidad de *penicilina* y con 1 a 120 mg de *estreptomicina* por c.c. La penicilina es mucho más eficaz que la estreptomicina, excepto para alguna cepa ocasional de estafilococo que tiene resistencia natural o adquirida para la penicilina (Rustigian y Cipriani 1947). Las *sulfonamidas* tienen eficacia definida, pero muy limitada. El efecto sinérgico de la penicilina y la estreptomicina ha sido estudiado por Klein y Kimmelmann (1947).



FIG. 39. COLONIAS GRANDES, DE TIPO RUGOSO, DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS.

Colonias pequeñas de formas G. (De Hoffstadt y Youmans.)

Variabilidad. Los estafilococos dorados pueden producir colonias incoloras, blancas o traslúcidas, con cambio correspondiente en la forma de la colonia y en la virulencia, o sin él. Este fenómeno ha sido estudiado por Biggar y col. (1927), Gilbert (1931), Hoffstadt y Youmans (1932) y Swingle (1935). En general, las variantes siguen los tipos observados en el estudio de otros organismos; se pueden obtener tipo M (mucoide), S (liso), R (rugoso) y G de Hadley (fig. 39).

Metabolitos bacterianos. Conforme se desarrollan, los estafilococos elaboran cierto número de substancias que no han sido bien definidas químicamente, pero de funciones fisiológicas que están siendo investigadas. Cepas patógenas de *S. aureus, albus* y, ocasionalmente, de *citreus*, licuan la gelatina y producen una *gelatinasa* extremadamente termolábil. La leche puede ser coagulada y después peptonizada; el suero sanguíneo coagulado, en forma de medio de Löffler, puede ser licuado por una *proteinasa*. Orcutt y Howe (1922) y Christie y Graydon (1940) han hallado una *lipasa*. La mayor parte de las cepas de *S. aureus* producen *factor de difusión* de Durán-Reynals (1933) o *hialuronidasa*. Tillett (1938) sólo pudo encontrar unas pocas cepas de estafilococos de origen humano capaces de disolver un coágulo de plasma, pero según Madison (1935) el 90 por ciento de los estafilococos aislados de infecciones graves del hombre producen *fibrinolisina*.

La capacidad de ciertos estafilococos y sus productos para coagular el plasma citratado u oxalatado fué descrita primero por Loeb (1903-04); ha sido estudiada por Gratia y Bordet (1920), Gross (1932) y otros autores. La producción de *coagulasa* ha sido aceptada por Blair (1939), Fairbrother (1940), Christie y Keogh (1940) y Smith y Hale (1944) como el criterio más útil para diferenciar los estafilococos patógenos de los no patógenos.

Exotoxinas. Los estafilococos producen cantidades insignificantes de toxina, cuando se desarrollan en los medios usuales de laboratorio; se ha supuesto que las toxinas tendrían importancia mínima en las infecciones estafilocócicas. En 1928, en Bundaberg, Australia, una mezcla de toxina-antitoxina diftérica llegó contaminarse con una cepa de *Staphylococcus aureus* y 12 a 21 niños inyectados con la mezcla

murieron de intoxicación aguda dentro de las 24 horas. La investigación de Burnet acerca del desastre de Bundaberg (1930) estimuló de nuevo el interés por las exotoxinas de los estafilococos. Parker (1924), Burnet (1930), Dolman (1932), Burky (1933), Stookey y Scarpellino (1937) y Blair (1939) han demostrado que los estafilococos producen cantidades considerables de toxinas potentes que aparecen en cultivos de uno a tres días, desarrollados en agar semisólido con infusión de carne de ternera o buey, e incubados en una atmósfera de CO_2 del 20 al 40 por ciento. Las toxinas son destruídas por calentamiento de 55° a 60° C. y se pueden convertir en toxoides por tratamiento con formaldehido.

La toxina gastroentérica puede aparecer sola o ir asociada con una o más de otras. Las otras cuatro exotoxinas: 1) hemolisina, 2) leucocidina, 3) toxina dermonecrótica, y 4) toxina letal, pueden considerarse prácticamente como una misma, puesto que la antitoxina preparada en caballos neutraliza todos los efectos tóxicos específicos.

Hemolisinas. Kraus y Clairmont (1900) observaron la acción hemolítica de los estafilococos en placas de agarsangre y demostraron que el filtrado de cultivos en caldo disolvía los eritrocitos. Glenny y Stevens (1935) comprobaron que había por lo menos dos clases de hemolisinas. El primer tipo, llamado alfahemolisina, hemolizaba los glóbulos rojos de conejo, carnero, rata, hombre, caballo y cobayo en el orden expuesto. La betahemolisina hemolizaba los glóbulos rojos de buey, hombre, cobayo, conejo y rata. La alfahemolisina disuelve rápidamente los glóbulos rojos de conejo a 37° C., mientras que la betahemolisina sólo hemoliza los glóbulos rojos de carnero y humanos, cuando la incubación preliminar a 37° C. va seguida de enfriamiento (Bryce y Rountree, 1936; Roy, 1937). La alfahemolisina se encuentra de manera predominante en cepas humanas de estafilococos y casi siempre corresponde en potencia a la leucocidina, toxina dermonecrótica y factores letales. La betahemolisina se produce en mayor cantidad en cultivos de origen bovino (Slanetz, 1942), pero se puede presentar sola o en combinación con la alfahemolisina en las cepas humanas (Roy, 1937). Smith y Price (1938) han descrito la gammahemólisis.

Leucocidina. Van de Velde, en 1894, descubrió una leucocidina en los exudados peritoneales de conejos que habían sido inyectados con cepas virulentas de estafilococos. Los leucocitos vivos reducen las soluciones de azul de metileno, mientras que los leucocitos muertos han perdido esta propiedad. Neisser y Wechsberg (1901) midieron cuantitativamente la cantidad de leucocidina añadiendo diluciones seriadas de filtrados a tubos que contenían solución tipo de azul de metileno con leucocitos. Joyner y Smith (1936) interpretaron la desviación a la izquierda en el recuento diferencial de los leucocitos como indicación de toxemia estafilocócica y la desviación correspondiente a la derecha como prueba de una terapéutica adecuada con toxina estafilocócica.

La leucocidina no debe ser confundida con la *leucotoxina*, substancia obtenida del suero tratando los animales con leucocitos.

Toxina dermonecrótica. Parker, en 1924, encontró que los filtrados de cultivo de estafilococo, desarrollados en medio de Walbum modificado, contenían una exotoxina extremadamente lábil que producía necrosis en la piel del conejo dos a cinco días después de la inoculación intradérmica. Burky (1934) ha demostrado que la reacción para esta toxina sólo se observa en razas de conejos que no logran nuevo crecimiento del pelo después de la depilación por el sulfuro de bario. Esta toxina necrotizante suele presentarse junto con hemolisinas, leucocidinas y toxinas letales, pero se puede producir en ausencia de alguno o de todos estos factores.

La toxina dermonecrótica de Parker es una verdadera hexotoxina que se puede neutralizar por una antitoxina específica; las lesiones necróticas provocadas por la toxina deben ser diferenciadas de las lesiones cutáneas necróticas causadas por la reacción de hipersensibilidad a la proteína estafilocócica (Smith y Martin, 1947).

Toxina letal. Kraus y Pribram, en 1906, descubrieron que las inyecciones intravenosas de filtrados de cultivos en caldo de ciertas razas de *Staphylococcus aureus* mataban a los conejos en 5 a 30 minutos. Burky estudió algunas cepas que producían toxinas de tal virulencia que 0,25 a 0,5 c.c. por kilogramo de peso corporal mataba a los conejos susceptibles en un tiempo que variaba desde pocos minutos a 24 horas. Según Dingle y col. (1937), la muerte rápida resulta de fibrilación ventricular. La toxina letal suele acompañar a las otras toxinas, pero se puede presentar en ausencia de hemolisinas (Burky). Esta toxina se neutraliza por una antitoxina específica; se han preparado toxoides que provocan la formación de antitoxina.

Enterotoxina e intoxicación alimenticia. La intoxicación alimenticia producida por estafilococos fué descrita primeramente por Barber en 1914; ha sido estudiada en detalle por Jordan (1930), Dack y col. (1930) y Jordan y Burrows (1924) en Estados Unidos, y Dolman y Wilson (1936) en el Canadá. Alimentos que contienen almidón, como bollos y pasteles de crema y aderezos de ensalada, se llegan a contaminar con estafilococos, ocasionalmente de origen bovino, pero, por lo general, de portadores humanos. La enterotoxina puede resistir la ebullición durante 15 a 30 minutos, lo que no ocurre con las hemolisinas y toxinas dermonecróticas y letales (Dolman, 1944). Se pueden producir antitoxinas en los animales por medio de inyecciones subcutáneas, pero no por ingestión.

Cuando los alimentos contaminados permanecen a la temperatura de la habitación por ocho o diez horas, la toxina soluble se produce en cantidades suficientes para producir la intoxicación alimenticia. El período de incubación es corto, de dos a seis horas; el comienzo de los síntomas es repentino y violento con náuseas, vómitos, diarrea y, a veces, colapso súbito; llega a hacer pensar en el comienzo del cólera. La muerte raramente ocurre, si es que se ha observado alguna vez; la recuperación suele ser completa en 24 ó 48 horas.

Los estafilococos sospechosos de causar la intoxicación alimenticia deben aislarse del alimento contaminado en la forma usual. Las colonias aisladas, por lo regular de *Staphylococcus aureus* que produce hemólisis, deben cultivarse en agar, semisólido en atmósfera de 25% de CO_2; los filtrados estériles deben hacerse ingerir por voluntarios y en cantidades de 2 a 5 c.c. o a monos *rhesus* en dosis de 25 a 50 c.c. La prueba del gatito se considera irrealizable. La intoxicación alimenticia también puede ser causada por enterococos (Buchbinder y col., 1948).

Estructura antigénica. *Staphylococcus aureus* contiene proteínas y carbohidratos antigénicos. Julianelle y Wieghard (1935) aislaron un tipo de carbohidratos (A) de cepas patógenas y un segundo (B) de cepas que no eran patógenas. Las diferencias químicas en el tipo de carbohidrato fueron demostradas por rotación óptica y por diferencias en los productos finales de hidrólisis. Cuando se inocularon conejos con cocos íntegros de cepas representativas de los grupos A y B, se produjeron precipitinas específicas de título elevado. Los polisacáridos puros no eran patógenos para los conejos y ratones, ni eran antigénicos para el conejo cuando se separaban del complejo carbohidrato-proteína. El carbohidrato del grupo A dió el tipo de reacción inmediato (20 a 30 minutos) de "pápula y eritema" cuando se inyectaba intradérmicamente en pacientes con infecciones estafilocócicas.

Julianelle y Wieghard aislaron también de los estafilococos una proteína compleja que producía precipitinas cuando se inyectaba a conejos. La proteína purifica-

da no era tóxica para los conejos o ratones, pero cuando se inyectaba intradérmicamente a pacientes con infecciones estafilocócicas causaba reacción de desarrollo lento (24 a 48 horas) conocida como sensibilidad de tipo proteína —o tuberculina—. Si a pacientes que tienen infecciones estafilocócicas se les inyectan autovacunas o toxoides comerciales, suele obtenerse el tipo retrasado de reacción cutánea. En ocasiones, algún paciente sólo presenta el tipo de reacción de pápula inmediata, mientras que los otros dan primero la reacción inmediata y después la tardía.

Se ha demostrado que las proteínas son las responsables de la especificidad de especie de las cepas, mientras que los carbohidratos sirven para distinguir las variedades patógenas de las no patógenas.

Se ha establecido cierto número de subgrupos de estafilococos patógenos, por las reacciones de aglutinación y de fijación del complemento (Seedorf, 1924). Se han hecho otros estudios empleando la técnica de absorción recíproca de aglutininas (Blair y Hallman, 1935; Hegemann, 1937; Peragallo, 1937). Thompson y Khorazo (1937) encontraron un polisacárido de grupo C, y Verwey (1940) una proteína específica.

Los estafilococos, con frecuencia, son portadores de *bacteriófago*. Fisk (1942) ideó un método de cultivo cruzado para determinar el tipo de bacteriófago que permitió separar 44 cepas en 37 grupos. Wilson y Atkinson (1945) han clasificado los estafilococos empleando filtrados líticos potentes por un método análogo al de clasificación del bacteriófago Vi del bacilo tífico y han comprobado que el procedimiento es muy útil en investigaciones epidemiológicas.

Enfermedad experimental en los animales de laboratorio. Los conejos son relativamente sensibles para cepas patógenas de estafilococos; los ratones pueden ser infectados, pero los cobayos son bastante resistentes. Ocurren infecciones espontáneas con estafilococos en algunas colonias de conejos.

El resultado de los experimentos en animales varía algo según la edad y resistencia general del conejo, la vía de inoculación y el método de preparación de los cultivos, así como el poder invasor específico de la cepa particular de estafilococo. Los conejos jóvenes, de menos de cuatro meses de edad, no son sensibles a las toxinas dermonecróticas o letales (Burky). Las inoculaciones subcutáneas o intramusculares suelen dar lugar a un absceso localizado que se rompe, drena y cura. Las inoculaciones intraperitoneales, por regla general, son mortales. Burky (1933) inoculó conejos intravenosamente con cultivos en caldo de 10 días, de 75 cepas de estafilococos. Los organismos que producían exotoxinas mataron a los conejos en dos días sin formación de absceso. Las cepas de estafilococos que no producían toxina demostrable mataron a los conejos en 1 a 30 días con formación de abscesos en los órganos internos. Un tercer grupo compuesto de razas no toxógenas ni invasoras no produjeron efectos deletéreos en los conejos. Burky también ha demostrado que los conejos que han recibido inyecciones intravenosas de toxina estafilocócica, no sólo producen anticuerpos específicos, sino que también sufren un estado de hipersensibilidad para el caldo en el cual se desarrolló la toxina. La presencia de toxinas en el caldo parece modificar la respuesta de los tejidos a los demás antígenos. Cuando se añadió al cultivo en caldo extracto de cristalino del ojo, los conejos inyectados con la toxina obtenida de este medio se hicieron muy alérgicos a la proteína de los cristalinos. Los conejos inyectados con toxina estafilocócica combinada con extracto de ambrosía, produjeron precipitinas para la ambrosía y desarrollaron síntomas de tipo anafiláctico cuando se les ponía en contacto con polen de ambrosía.

Tipos clínicos de infección en el hombre. El hombre es más susceptible a las infecciones estafilocócicas que los animales de laboratorio. Garré (1885) frotó con

cultivo puro la piel íntegra de su antebrazo y produjo una serie de ántrax que dejaron 17 cicatrices.

Las formas clínicas de la enfermedad estafilocócica en el hombre dependen de la dosis, la vía de invasión, la presencia o ausencia de anticuerpos por infecciones previas, la presencia o ausencia de hipersensibilidad, así como de las variaciones ya descritas en los antígenos y toxinas de los estafilococos.

Se produce una variedad de lesiones cutáneas que varían desde pequeñas pústulas acneiformes a furúnculos dolorosos o diviesos y ántrax graves. Los furúnculos en las proximidades de la nariz y labio superior son particularmente peligrosos, puesto que la infección suele propagarse hasta las venas causando trombosis orbitaria y del seno cavernoso, septicemia y muerte.

La infección de las uñas puede causar panadizos y propagarse a los dedos y a la mano.

Los estudios de cultivos o de antígenos no permiten explicar el tipo particular de infección estafilocócica conocido como impétigo contagioso. La lesión no es un grano ni un divieso, sino una pequeña vesícula o flictena llena de líquido. Las epidemias de impétigo son frecuentes entre escolares (Smith y Burky, 1924).

Los diviesos recurrentes de la parte posterior del cuello, axila y nalgas constituyen un enigma inmunológico y plantean un problema práctico de tratamiento. Con cada nueva erupción de furúnculos el paciente parece hacerse más susceptible en lugar de inmunizarse. Generalmente se puede demostrar por pruebas cutáneas con vacunas estafilocócicas o con toxoides la existencia de una hipersensibilidad de tipo tuberculínico (Smith y Martin, 1947).

Son muy comunes las infecciones de las mucosas (ojo, nariz, nasofaringe, bronquios y pulmones). Los estafilococos pueden causar bronquitis superficial o ulceraciones de la pared del bronquio dando lugar a bronquiectasias. La neumonía estafilocócica mortal no es rara en los niños pequeños; en los mayores y en los adultos, suele evolucionar hasta formar abscesos en los pulmones, y a veces empiema.

Con frecuencia, los estafilococos son deglutidos con la secreción nasofaríngea; junto con otros organismos, se han encontrado en infecciones de la vesícula biliar, apéndice, hígado y peritoneo.

El estafilococo ocupa el segundo lugar después de *Escherichia coli* como causa de cistitis y pielonefritis. Ocasionalmente han ocurrido epidemias de vaginitis estafilocócica en niñas, confundidas con vaginitis gonocócica.

La osteomielitis, que suele empezar en la epífisis de un hueso largo, suele ser causada por el estafilococo. Además de la inflamación local en el hueso hay toxemia generalizada por las exotoxinas de los estafilococos; la corriente sanguínea es invadida en el 50% de los casos (Baker y Shands, 1939). Después de una fractura compuesta, los microorganismos pueden ingresar en la economía desde la piel, pero en la mayor parte de los casos de fractura simple o de ligero magullamiento óseo los estafilococos pueden alcanzar el sitio de la lesión por la circulación general. Esta observación plantea el problema de la frecuencia con que ocurre la bacteriemia con organismos patógenos o potencialmente patógenos en individuos normales que no presentan signos locales o generales de enfermedad.

Un absceso estafilocócico del cerebro puede resultar de la extensión directa de un proceso infeccioso del oído medio, mastoides o senos nasales; los organismos también pueden alcanzar el cerebro en forma de un émbolo infectante desde los pulmones. La meningitis puede ser grave y rápidamente mortal si es causada por una cepa virulenta de estafilococo, o leve y crónica cuando es provocada por un organismo de poca virulencia.

La septicemia puerperal suele ser causada por estreptococos, pero puede originarse por infección estafilocócica.

La endocarditis estafilocócica suele producir una rápida destrucción de las válvulas infectadas del corazón y la muerte del paciente.

La septicemia generalizada y la piemia resultan de la extensión de una infección local mal tratada. Con frecuencia se puede observar toxemia por las exotoxinas del estafilococo y abscesos locales en los órganos internos. La mortalidad en este tipo de infección estafilocócica es de 80 a 90 por ciento (Skinner y Keefer, 1941), comparable a la de la peste bubónica.

Las enfermedades generales del metabolismo, en especial la diabetes, hacen al individuo anormalmente susceptible a las infecciones por estafilococo.

Transmisión. Desde el nacimiento hasta la muerte, el hombre vive en una atmósfera saturada periódicamente con estafilococos más o menos patógenos. Bryce y Burnet (1932) han demostrado la transmisión pasiva de antihemolisinas de la madre al feto. Algunas semanas después del nacimiento hay una rápida caída de los títulos de la antihemolisina, seguida de una vuelta gradual de hemolisinas activas durante la infancia. Kobak y Pilot (1931) estudiaron un grupo de madres que reaccionaban a la toxina dermonecrótica, mientras que los niños recién nacidos no reaccionaban a ella. Pero al final del primer año de vida el 65 por ciento de los niños dieron cutirreacciones positivas. Si los anticuerpos se transmiten a través de la placenta al feto se pierden durante los primeros meses de vida extrauterina, ya que los niños de 3 a 12 meses de edad sucumben con frecuencia por neumonía estafilocócica. Cabe esperar que los niños adquieran gradualmente infecciones subclínicas y desarrollen un grado relativo de inmunidad, con sensibilidad a los antígenos de los microorganismos o sin ella.

El impétigo estafilocócico es altamente contagioso y puede causar verdaderas epidemias en los escolares. En condiciones anormales, los estafilococos pueden llegar a ser el invasor secundario predominante después de infecciones por virus, como sarampión o influenza. En Camp Jackson (Columbia, S. C.), durante la primera Guerra Mundial los estafilococos fueron los invasores secundarios predominantes después de la influenza (Chickering y Park, 1919). En la epidemia de influenza leve de 1939-40, la infección secundaria con estafilococos fué la causa principal de muerte (Finland y col., 1942).

Productos biológicos. No hay sueros antibacterianos eficaces para el tratamiento de las infecciones estafilocócicas. La antitoxina estafilocócica neutraliza los efectos de las exotoxinas, pero no tiene acción directa sobre los organismos invasores. Esta antitoxina no ha sido producida comercialmente desde la introducción de la penicilina.

Se hallan en el comercio vacunas inactivas por el formol o por el calor a 60° C. durante una hora; las autovacunas se pueden preparar fácilmente en cualquier laboratorio.

El toxoide estafilocócico preparado comercialmente por tratamiento de los filtrados tóxicos con formol es de uso común.

Tratamiento. La introducción de la penicilina ha revolucionado el tratamiento de las infecciones estafilocócicas. Los estafilococos varían considerablemente en su sensibilidad a la penicilina; algunas cepas responden a dosis comparables a las requeridas por los neumococos y estreptococos hemolíticos más susceptibles, mientras que otras requieren de 10 a 20 veces más (Ory y col., 1945). Como los estafilococos están algo aislados de la circulación, como resultado de la interacción entre sus diversos metabolitos y los tejidos, la terapéutica por la penicilina debe con-

tinuarse algunas veces durante varias semanas para prevenir el desarrollo de abscesos.

En procesos originados por cepas resistentes, puede resultar eficaz una combinación de sulfonamidas y penicilina, cuando ninguna de ellas es curativa por separado. En casos raros la estreptomicina es más eficaz que la penicilina.

Las autovacunas, vacunas y toxoides estafilocócicos comerciales son útiles para desensibilizar a los pacientes hipersensibles, pero su valor para aumentar la inmunidad humoral ha sido puesto en duda (Blair, 1939).

La existencia de hipersensibilidad debe sospecharse no sólo cuando el paciente tiene furúnculos recidivantes, sino en todas las infecciones estafilocócicas subagudas y crónicas, independientemente de su localización en el organismo. La hipersensibilidad puede demostrarse por pruebas intradérmicas con vacunas o toxoides; la desensibilización puede lograrse inyectando subcutáneamente dosis gradualmente crecientes del antígeno específico. En ocasiones la terapéutica por la penicilina es ineficaz hasta que se ha logrado una desensibilización parcial.

Prevención. La diseminación directa por contacto físico se puede prevenir por la limpieza de la piel y la protección de todas las heridas y rozaduras con el fin de evitar la contaminación. Las infecciones aportadas por el aire en las salas de operaciones han sido dominadas por el uso de un tipo especial de luz ultravioleta (Hart, 1941).

El mecanismo principal de diseminación, la infección por gotitas de la nasofaringe, está pendiente de la solución general que se dé al problema de las enfermedades transmisibles por el aire.

STAPHYLOCOCCUS ALBUS

Género: *Micrococcus* Cohn. Especie: *Micrococcus pyogenes* var. *albus* (Rosenbach) Schroeter

Staphylococcus albus difiere de *Staphylococcus aureus* simplemente en la ausencia de coloración amarilla dorada de sus cultivos. En cuanto a morfología, cultivos y poder patógeno es en todos los aspectos similar al estafilococo descrito en la sección precedente, pero su capacidad de producir toxinas y enzimas en general es menor que en la variedad dorada. Su estrecho parentesco biológico con *Staph. aureus* se demuestra, además, por su aglutinación con los sueros inmunes para *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus epidermidis albus. *Staphylococcus epidermidis albus*, descrito por Welch, es simplemente una variedad no patógena de *Staphylococcus albus;* no parece merecer una clasificación aparte. Puede dar lugar a lesiones mínimas, especialmente abscesos puntiformes.

STAPHYLOCOCCUS CITREUS

Género: *Micrococcus* Cohn. Especie: *Micrococcus citreus* Migula

Staphylococcus citreus produce un pigmento de color limón o amarillo brillante, de matiz claramente diferente del de *Staphylococcus aureus*. Puede ser piógeno; en todos los aspectos similar a *Staphylococcus aureus*, pero se encuentra con menor frecuencia en las lesiones que cualquiera de los estafilococos estudiados hasta aquí.

Se han observado gran número de estafilococos que difieren de los arriba descritos en uno u otro detalle. Son de ocurrencia común y se encuentran principalmente

como contaminaciones en el curso del trabajo bacteriológico. Algunos tienen cierto significado patológico; ninguno de ellos, que se sepa, es productor de toxina.

Algunos observadores han descrito estafilococos patógenos atípicos.

MICROCOCCUS TETRAGENUS

Género: *Gaffkya* Trevisan. Especie tipo: *Gaffkya tetragen* (Gaffky) Trevisan

En 1881, Gaffky aisló un micrococo que se presentaba en grupos característicos de cuatro (tétrada). Observado en los frotis o en el pus las tétradas son de tamaño algo mayor que los estafilococos ordinarios; los cocos son aplanados en sus superficies adyacentes y las tétradas están rodeadas por cápsulas gruesas a manera de halo (figura 40). Las preparaciones de los cultivos, rara vez tienen cápsulas demostrables. El micrococo es grampositivo y suele mostrar coloración metacromática.

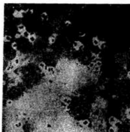


Fig. 40. Micrococcus tetragenus.

Cultivo. *Micrococcus tetragenus* se desarrolla rápidamente en los medios usuales de laboratorio, formando colonias blancas o amarillas.

Variabilidad. La variación tiene lugar regularmente en cultivos viejos de algunas cepas de colonias blancas que dan lugar a colonias amarillas, rosadas, morenas o translúcidas. Reimann, en el año 1935, aisló de una sola cepa cinco tipos diferentes los cuales fueron caracterizados por especificidad inmunológica y también por los pigmentos que producían en sus formas M, S y R.

Poder patógeno. *M. tetragenus* no es patógeno para los animales de laboratorio.

Aunque Reimann (1935) aisló este organismo de la sangre, líquido cefalorraquídeo y líquido articular de una infección no mortal y reunió de la literatura 170 casos de infecciones en el hombre, cree que su poder patógeno para el hombre es fortuito y depende de la baja resistencia del paciente más bien que de la virulencia del micrococo.

SARCINA LUTEA

Género: *Sarcina* Goodsir. Especie: *Sarcina lutea* Schroeter

Sarcina lutea puede obtenerse del aire, agua o de la piel humana. En condiciones anaerobias y en agar el organismo se desarrolla rápidamente produciendo colonias elevadas, amarillas, groseramente granulosas, de superficie brillante. El desarrollo óptimo tiene lugar a 25° C.

Estos cocos grampositivos son mayores que los estafilococos, con un promedio de 1 a 1,5 μ de diámetro. La división celular suele tener lugar en tres planos, dando lugar a la producción de paquetes cúbicos de microorganismos.

Se han descrito otras especies de *Sarcina* pero no se ha podido demostrar poder patógeno en ninguno de los miembros del género.

BIBLIOGRAFIA

ABRAHAM, E. P., CHAIN, E., FLETCHER, C. M., GARDNER, A. D., HEATLEY, N. G., JENNINGS, M. A., and FLOREY, H. W. *Lancet*, 1941, 2:177.
BAKER, L. D., and SHANDS, A. R. *J.A.M.A.*, 1939, 113:2119.
BARBER, M. A. *Philippine J. Sc.*, 1914, 9:515.
BAYNE-JONES, S., and ZINNINGER, P. *Johns Hopkins Hosp. Bull.*, 1921, 32:299.
BIGGAR, J. W., BOLAND, C. R., and O'MEARA, R. A. *J. Path. & Bacteriol.*, 1927, 30:261, 271.
BLAIR, J. E. *Bacteriol. Rev.*, 1939, 3:97.
——— and HALLMAN, F. A. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1935, 33:382.
BRYCE, L. M., and BURNET, F. M. *J. Path. & Bacteriol.*, 1932, 35:183.
——— and ROUNTREE, P. M. *J. Path. & Bacteriol.*, 1936, 43:173.
BURKY, E. L. *J. Immunol.*, 1933, 24:93, 115, 127; 1933, 25:419.
——— *J. Allergy*, 1934, 5:466.
——— *Arch. Ophthalmol.*, 1934, 12:536.
——— *J. Ophthalmol.*, 1936, 19:782, 841.
BURNET, F. M. *J. Path. & Bacteriol.*, 1929, 32:717; 1930, 33:1; 1931, 34:471.
BUCHBINDER, L., OLSER, A. G., and STEFFEN, G. I. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1948, 63:109.
CHAPMAN, G. H. *J. Bacteriol.*, 1944, 47:211.
——— BERENS, C., NILSON, E. L., and CURCIO, L. G. *J. Bacteriol.*, 1938, 35:311.
CHICKERING, H. T., and PARK, T. A. *J.A.M.A.*, 1919, 72:617.
CHRISTIE, R., and GRAYDON, J. J. *Aust. J. Exper. Biol.*, 1940, 19:Part 1:9.
——— and KEOGH, E. V. *J. Path. & Bacteriol.*, 1940, 51:189.
CHURCHMAN, J. W. *J. Exper. M.*, 1912, 16:221; 1923, 37:543.
DACK, G. M., CARY, W. E., WOOLPERT, O., and WIGGERS, H. *J. Prevent. M.*, 1930, 4:167.
DENYS, J., and VAN DE VELDE. *La Cellule*, 1895, 11:Fasc. 2:357.
DINGLE, J. H., HOFF, H. E., NAHUM, L. H., and CAREY, B. W., JR. *J. Pharmacol. & Exper. Therap.*, 1937, 61:121.
DOLMAN, C. L. *Canadian J. Pub. Health*, 1944, 35:337; 1932, 23:125.
——— *J. A. M. A.*, 1933, 100:1007.
——— *Canadian M. Ass. J.*, 1934, 30:601.
——— *J. Infect. Dis.*, 1934, 55:172.
——— and KITCHING, J. S. *J. Path. & Bacteriol.*, 1935, 41:137.
——— and WILSON, R. J., and COCKCROFT, W. A. *Canadian J. Pub. Health*, 1936, 27:489.
DURAN-REYNALS, F. *J. Exper. M.*, 1933, 58:161; 1935, 61:617.
FAIRBROTHER, R. W. *J. Path. & Bacteriol.*, 1940, 50:83.
FILDES, P., RICHARDSON, G. M., KNIGHT, B. C. J. G., and GLADSTONE, G. P. *Brit. J. Exper. Path.*, 1936, 17:481.
FINLAND, M., PETERSON, O. L., and STRAUSS, E. *Arch. Int. M.*, 1942, 70:183.
FISK, R. T. *J. Infect. Dis.*, 1942, 71:153.
GAFFKY, G. *Mitt. a.d. Kaiserl. Gsndhtsamte*, 1881, 1.
GARRÉ. *Fortschr. d. med.*, 1885, 3:165.
GILBERT, I. *J. Bacteriol.*, 1931, 21:157.
GILLESPIE, E. H., DEVENISH, E. A., and COWAN, S. T. *Lancet*, 1939, 2:870.
GLENNY, A. T., and STEVENS, M. F. *J. Pathol. & Bacteriol.*, 1935, 40:201.
GOADBY, K. W. *J. Path. & Bacteriol.*, 1932, 35:657.
GRATIA, A., and BORDET, J. *Compt. rend. Soc. de biol.*, 1920, 83:585.
GROSS, H. *Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therap.*, 1932, 73:14.
HART, D., DEVINE, J. W., and MARTIN, D. S. *Arch. Surg.*, 1939, 38:806.
——— SCHIEBEL, M., and SHARP, D. G. *Trans. Southern Surg. Ass.*, 1941, 54:347.
——— *J. A. M. A.*, 1941, 117:1610.
HEGEMANN, G. *Z. bl. Bakt.*, 1937, 140:108.
HINE, T. G. M. *Lancet*, 1922, 2:1380.
HISS, P. H., and ZINSSER, H. *J. Med. Research*, 1909, 20:245.
HOFFSTADT, R., an YOUMANS, G. P. *J. Infect. Dis.*, 1932, 51:216.
JORDAN, E. D., and BURROWS, W. *Am. J. Hyg.*, 1934, 20:604.
JORDAN, E. O. *J. A. M. A.*, 1930, 94:1648.
——— and MCBROOM, J. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1931, 29:161.
JOYNER, A. L. and SMITH, D. T. *Surg. Gynec. & Obst.* 1936, 63:1.
JULIANELLE, L. A., and WIEGHARD, C. W. *J. Exper. M.*, 1935, 62:11, 23, 31.
KLEIN, M., and KIMMELMAN, L. J. *J. Bacteriol.*, 1947, 54:363.
KLIGLER, I. J., GROSSOWICZ, N., and BERGNER, S. *J. Bacteriol.*, 1943, 46:399.
KNIGHT, B. C. J. G. *J. Biochem.*, 1937, 31:731.
KOBAK, A. J., and PILOT, I. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1931, 28:584.
KRAUS, R. *Wien. klin. Wchnschr.*, 1902, 15:382.
——— and CLAIRMONT, P. *Wien. klin. Wchnschr.*, 1900, 13:49; 1901, 14:1016.
——— and PRIBRAM, E. *Wien. klin. Wchnschr.*, 1906, 19:493.
LANNER, E., and SCHÖNSLEBEN, G. *Arch. f. Hyg.*, 1922, 91:349.
LOEB, L. *J. Med. Research*, 1903-04, 10:407.

MADISON, R. R. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1935-36, 33:209.
MILES, A. A., WILLIAMS, R. E. O., and CLAYTON-COOPER, B. *J. Path. & Bacteriol.*, 1944, 56:513.
NEISSER, M. *Die Staphylokokken, Handb. d. pathog. Mikroorganismen*, edited by W. Koole, R. Kraus and P. Uhlenhuth, 3rd ed., Berlin, 1928, 4: Chap. V, pp. 437-510.
——— and WECHSBERG, F. *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, 1901, 36:299.
——— and HARTMAN, A. F. *J. Exper. M.*, 1936, 63:149.
NICOLLE, M., and CÉSARI, E. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1914, 28:219.
OGSTON, A. *Arch. f. klin. Chir.*, 1880, 25:588.
——— *Brit. M. J.*, 1881, 1:369.
O'KANE, D. J. *J. Bacteriol.*, 1941, 41:441.
ORCUTT, M. L., and HOWE, P. E. *J. Exper. M.*, 1922, 35:409.
ORY, E. M., MEADS, M., BROWN, B., WILCOX C., and FINLAND, M. *J. Lab. & Clin. Med.*, 1945, 30:809.
PARKER, J. T. *J. Exper. M.*, 1924, 40:761.
PERACALLO, I. *G. Blatt. Immunol.*, 1937, 18:577.
REIMANN, H. A. *J. Clin. Investigation*, 1935, 14:311, 807. *J. Bacteriol.*, 1936, 31:385, 407; 1937, 33:499, 513.
ROSENBACH. *Microorganismen bei den Wundinfektionskrankheiten des Menschen*, Wiesbaden, 1884.
ROY, T. E. *J. Immunol.*, 1937, 33:437.
RUSS, V. K. *Ztschr. f. Exper. Path. u. Therap.*, 1916, 18:220.
RUSTIGIAN, R., and CIPRIANI, A. *J. A. M. A.*, 1947, 133:224.
SEEDORF, J. Copenhagen Thesis. Levin and Munksgaard, Copenhagen, 1924.
SKINNER, D., and KEEFER, C. S. *Arch. Int. Med.*, 1941, 68:851.
SLANETZ, L. W. *J. Bacteriol.*, 1942, 43:105.
SMITH, D. T., and BURKY, E. L. *Johns Hopkins Hosp. Bull.*, 1924, 35:78.
——— and MARTIN, D. S. *N. C. Med. Jour.*, 1947, 8:160.
SMITH, M. L., and PRICE, S. A. *J. Path. & Bacteriol.*, 1938, 47:379.
SMITH, W., and HALE, J. H. *Brit. J. Exper. Path.*, 1944, 25:101.
STOOKEY, P. F., and SCARPELLINO, L. A. *Arch. Dermat. & Syphilol.*, 1937, 36:106.
SWINGLE, E. L. *J. Bacteriol.*, 1935, 29:467.
THOMPSON, R., and KHORAZO, D. *J. Bacteriol.*, 1937, 34:69.
TILLETT, W. S. *Bacteriol. Rev.*, 1938, 2:161.
VAN DE VELDE, H. *La Cellule*, 1894, 10: Fasc. 2, 401.
VERWEY, W. F. *J. Exper. M.*, 1940, 71:635.
WALBUM, L. E. *Biochem. Ztschr.*, 1922, 129:367.
WELCH, W. H. *Am. J. M. Sc.*, 1891, 102:439.
WELD, PARKER, and GUNTER, A. *J. Exper. M.*, 1931, 54:315.
WELLS, W. F., and WELLS, M. W. *J.A.M.A.*, 1936, 107:1698 and 1809.
——— and MUDD, S. *Am. J. Pub. Health*, 1939, 29:863.
WILSON, G. S., and ATKINSON, J. D. *Lancet*, 1945, 1:647.
WINSLOW, C.-E. A., ROTHBERG, W., and PARSONS, E. I. *J. Bacteriol.*, 1920, 5:145.
——— and WINSLOW, A. R. *The Systematic Relationships of the Coccaceae*, New York, 1808.
WOOLPERT, O. C., and DACK, G. M. *J. Infect. Dis.*, 1933, 52;6.

CAPITULO XIX

ESTREPTOCOCOS

Familia: *Lactobacteriaceae* Orla-Jensen. Grupo: *Streptococceae* Trevisan. Género: *Streptococcus* Rosenbach. Especie tipo: *Streptococcus pyogenes* Rosenbach

El hombre es el más susceptible de todos los animales para las infecciones estreptocócicas; ningún órgano ni tejido de su cuerpo es completamente inmune. Los estreptococos causan enfermedades epidémicas, como escarlatina, erisipela y afecciones epidémicas de la garganta; infecciones importantes, como la fiebre puerperal, probablemente la fiebre reumática y las artritis reumatoides; e innumerable variedad de lesiones locales.

Las mismas investigaciones que llevaron al descubrimiento de los estafilococos sentaron las bases de nuestros conocimientos en cuanto a estreptococos.

Según lo que escribió Pasteur de la fiebre puerperal, es evidente que reconoció el estreptococo en 1878-79. Por el mismo tiempo Koch vió el organismo en el pus de las infecciones de las heridas. Ogston (1881) fué el primero en diferenciar con claridad los estafilococos irregularmente agrupados de los cocos en cadena.

Cultivos puros de estreptococos fueron obtenidos por primera vez por Fehleisen en 1883 y por Rosenbach en 1884. Adoptando el término *estreptococo*, introducido anteriormente por Billroth, Rosenbach dió el nombre de *Streptococcus pyogenes* a la variedad de organismo aislada por él en lesiones supuradas. Estos estudios, seguidos por las investigaciones de Passet (1885), constituyeron la base científica de nuestros conocimientos sobre propiedades patógenas de los estreptococos.

Como este grande e importante grupo de cocos piógenos se multiplica por división en un solo plano, los organismos se desarrollan de manera característica en cadenas, semejando una hilera de cuentas. El término *estreptococo* o *coco en cadena*, por tanto, es puramente morfológico e incluye microorganismos que pueden diferir de modo considerable, tanto en sus propiedades de cultivo como en poder patógeno. Así, cocos en cadena pueden aislarse del agua, leche, polvo y heces de los animales y del hombre. Estos pueden tener únicamente su apariencia morfológica en común con los estreptococos piógenos, que son tan importantes como causa de enfermedad.

Dentro de este gran grupo morfológico, la distinción en especies o variedades se ha establecido por la fermentación de los carbohidratos, acción sobre los glóbulos rojos y otros substratos, poder patógeno y diferencias antigénicas descubiertas por análisis inmunológicos y serológicos. Pero aun con todos estos datos no es posible, práctica ni científicamente, reconocer siempre las especies establecidas entre los estreptococos. Hay muchas características que interfieren de unos a otros en los miembros de este grupo y existe un considerable grado de variabilidad. La interrelación entre los estreptococos de las diversas fuentes y los límites de variabilidad de estos gérmenes todavía son poco conocidos. Estas relaciones fueron tratadas de manera completa por Sherman en 1937. En este capítulo nos referiremos al grupo patógeno en conjunto. En el siguiente, consideraremos en detalle la relación de los estrepto-

cocos con la escarlatina, erisipelas, procesos supurativos y septicémicos y otras enfermedades importantes del hombre.

Con excepción de alguna infección ocasional de las vacas y caballos, los estreptococos patógenos para la especie humana son albergados primariamente por el hombre en la mucosa de la nasofaringe y senos (Hamburger y col., 1944-45; Lemon, 1947). El aire, manos, vestidos y muchos objetos inanimados se contaminan con facilidad; tales agentes contaminados son importantes para transmitir las infecciones.

Morfología y tinción. El estreptococo considerado individualmente es un microorganismo esférico que mide de 0,5 μ a 1 μ de diámetro; en las cadenas características los cocos adyacentes están alargados según el eje de la cadena. Los estreptococos patógenos, cuando se desarrollan en medios líquidos favorables o en ciertos medios sólidos, suelen producir cadenas largas compuestas de ocho o más individuos (fig. 41) en contraste con las cadenas cortas que se encuentran con mayor frecuencia en los cultivos de razas menos virulentas y saprófitas. Desgraciadamente, ese desarrollo característico no es suficientemente constante para que tenga valor diagnóstico. Cuando se cultivan en condiciones anaerobias, las cadenas pueden estar totalmente constituídas por organismos muy pequeños o pueden contener organismos de tamaño normal alternando irregularmente con otros menores. En cultivos viejos se pueden encontrar en el extremo o incluso en medio de la cadena cocos muy abultados. En condiciones desfavorables de desarrollo pueden aparecer células alargadas en forma de masa, semejando bacilos difteroides (Lamanna, 1944).



Fig. 41. Streptococcus pyogenes. Tinción de Gram. × 1 200.

Con frecuencia se ven *cápsulas* en frotis tomados de animales infectados. Según Seastone (1943) los estreptococos cultivados en un medio con suero después de dos a dos horas y media de incubación producen cápsulas que desaparecen hacia la tercera o cuarta hora. Pike (1946) estudió las cápsulas intactas y comprobó que el material capsular era excretado en el medio. Las cápsulas de "Seastone" no son estructuras bien definidas como las de los neumococos; quizá deban considerarse como una "capa mucilaginosa" más que como una verdadera cápsula.

Los estreptococos se tiñen fácilmente por los colorantes de anilina usuales y son *grampositivos* en los cultivos jóvenes, pero variables o aun gramnegativos en cultivos viejos de varios días. Ciertas variedades aisladas de las heces se describen como gramnegativos. Los estreptococos son *inmóviles* no *esporulados* y carecen de flagelos.

Caracteres de cultivo. Los estreptococos piógenos se desarrollan fácilmente sobre todos los medios artificiales enriquecidos. Para el primer aislamiento, los medios deben contener sangre total, suero sanguíneo o trasudados como líquidos de ascitis o pleurales. La adición de glucosa en concentración de 0,5 por ciento aumenta la rapidez de desarrollo del organismo, pero modifica la capacidad de éste para lisar los glóbulos rojos.

Para el desarrollo óptimo en medios sintéticos los estreptococos del grupo A de Lancefield requieren glucosa, glutamina, tirosina, triptófano y ácido tioglicólico. En presencia del 5 por ciento de CO_2 no se necesita ácido adenílico, pero en su au-

sencia se requieren adenina (o purinas similares) y iones carbónicos (Pappenheimer y Hottle, 1940; Bernheimer y Pappenheimer, 1942).

Los organismos del grupo B necesitan valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, ácido glutámico, arginina, lisina, histidina y triptófano (Niven, 1943). Las vitaminas que no pueden sintetizar son ácido pantoténico (Subbarow y Rane, 1939; Woolley y Hutchings, 1939), riboflavina y ácido nicotínico (Rane y Subbarow, 1938), piridoxina (McIlwain, 1940), biotina y tiamina (Pappenheimer y Hottle, 1940). La glutamina es necesaria para el desarrollo de los estreptococos del grupo A, pero no para los que pertenecen al grupo B (Fildes y Gladstone, 1939).

Los estreptococos generalmente se desarrollan mejor a pH entre 7,4 y 7,6. Aunque el desarrollo puede tener lugar desde 15° C. a 40° C., la temperatura óptima para el cultivo de la mayor parte es de 37,5° C. *Streptococcus faecalis*, sin embargo, prospera a 47° C. La mayor parte de los estreptococos son *aerobios;* la adaptación a condiciones anaerobias se acompaña usualmente de alteraciones en la morfología y en los caracteres metabólicos. De ciertos tipos de infecciones clínicas se han aislado estreptococos *microaerófilos* y *anaerobios* estrictos.

En *placas de agarsangre* a 37° C. en 18 a 24 horas por lo general ya son visibles colonias delicadas, opalescentes, grisáceas. Son redondas con bordes lisos o muy ligeramente arrugados. Sobre la superficie del medio aparecen pequeñas gotitas de líquido. Según la fase de mutación, las colonias pueden variar desde el tipo mucoide hasta el finamente granular o aun la forma seca. En placas de agarsangre sembradas cuando el medio era líquido, para lograr diseminación uniforme de los gérmenes, la *hemólisis* de los glóbulos rojos alrededor de cada colonia es característica de ciertos estreptococos. El efecto hemolítico suele ser menos intenso en placas de agarsangre sembradas en estrías con asa.

Brown (1919) basó su clasificación en las propiedades hemolíticas observadas en agarsangre como sigue: 1) tipo *a* que producía coloración verdosa y hemólisis parcial de los glóbulos rojos que rodean la colonia, si bien se puede desarrollar una zona clara más externa cuando los cultivos se conservan en la nevera; 2) tipo β que produce una zona clara de hemólisis alrededor de la colonia, sin corpúsculos intactos ni mayor extensión de la zona hemolítica por refrigeración; 3) tipo γ que no ejerce efecto sobre los glóbulos rojos del medio. Para obtener los tipos de hemólisis claramente diferenciados debe usarse sangre de caballo o de conejo, y el medio no debe contener glucosa. El tipo de hemólisis que rodea a las colonias en las placas de agarsangre constituye el criterio más fácil para clasificar los estreptococos aerobios en grandes grupos: los que producen el tipo α de hemólisis, se conocen colectivamente como grupo de *Streptococcus viridans;* los que producen el tipo β suelen indicarse como grupo de *Streptococcus hemolyticus;* y aquellos que no tienen efecto sobre los glóbulos rojos se clasifican como grupo de *Streptococcus anhemolyticus*. Para lograr mayor diferenciación son necesarios estudios antigénicos detallados y especiales y observaciones de diversas características de cultivo.

En *caldo* alcalino a 37° C. los estreptococos se desarrollan rápidamente formando largas cadenas que se mezclan y sedimentan en copos. Por transferencia rápida los organismos pueden ser inducidos a formar cadenas cortas o pares de organismos y dan lugar a enturbiamiento homogéneo difuso del medio. Si se añade glucosa al caldo, el desarrollo del cultivo al principio es más rápido, pero la formación de ácido láctico inhibe el desarrollo ulterior y los organismos pueden morir a menos que rápidamente se pasen a otro medio. Cuando se desean cultivos en masa, el efecto deletéreo del ácido láctico se puede evitar por la adición de uno por ciento de carbonato cálcico pulverizado al caldo azucarado.

En suero sanguíneo coagulado de Löffler el desarrollo es rápido y lujuriante; las colonias tienden a confluir si el medio está muy húmedo.

Fermentan los carbohidratos simples produciendo *ácido sin gas*. La fermentación de la glucosa produce ácido láctico y pequeñas cantidades de alcohol etílico, ácido fórmico y ácido acético. *No fermentan la inulina*. La producción de ácido es variable cuando se emplean lactosa, manitol, salicina, sorbitol o trehalosa. Esta variación en la fermentación tiene cierto valor para diferenciar los estreptococos en diversos grupos y especies.

Los estreptococos *no son disueltos por la bilis de buey* o una solución al diez por ciento de sales biliares.

Resistencia. En esputos, exudados y excretas de los animales, los estreptococos pueden permanecer en vida durante varias semanas. En medios de cultivo ordinarios a la temperatura de la habitación los microorganismos suelen morir en diez días a dos semanas. Permanecerán vivos durante varias semanas en tubos de sangre de conejo desfibrinada guardados en la nevera y más tiempo aun, cuando se mantiene la temperatura entre 1° y 2° C. Los estreptococos se pueden conservar vivos sin alterar la virulencia, durante meses o años si se liofilizan según el método descrito por Flosdorf y Mudd (1935).

Algunas variedades de estreptococos mueren después de diez minutos de exposición a temperaturas de 55° C.; prácticamente, todas las especies mueren en 30 a 60 minutos a 60° C. La temperatura de pasteurización de 62° C. (143,6° F.) durante 30 minutos destruye todos los estreptococos patógenos de la leche. Los estreptococos mueren en 15 minutos por la tintura de yodo, por el fenol al 1:200, cresol al 1:175, cloruro de mercurio al 1:200 a 1:500; mercurocromo al 2 por ciento; y hexilresorcinol al 1:1 000. Los colorantes de trifenilmetano tienen menos reacción contra los estreptococos que contra los estafilococos.

Prácticamente, todas las variedades de estreptococos patógenos son sensibles a la acción bacteriostática de las *sulfonamidas*, excepto *S. faecalis* y otros miembros del grupo enterococo. Sin embargo, la resistencia a los efectos de la droga se adquiere en pocos días o semanas cuando se administra en dosis inadecuadas.

La *penicilina* es muy eficaz en dosis relativamente pequeñas contra los estreptococos betahemolíticos pertenecientes al grupo A de Lancefield, pero lo es algo menos contra los organismos pertenecientes a los grupos B, C, E, F y G. Las razas del grupo D de Lancefield y el grupo *viridans* requieren más penicilina. Algunas cepas necesitan dosis muy grandes. Los estreptococos anaerobios hemolíticos pueden ser 250 veces más resistentes a la penicilina que los estreptococos aerobios (Abraham y col., 1941). Afortunadamente, en el animal la resistencia a la penicilina, si es posible, se adquiere lentamente, por lo que el tratamiento prolongado y repetido con penicilina tiene utilidad práctica. Los experimentos en el tubo de ensayo han demostrado que la *estreptomicina* inhibe diversas cepas de estreptococos en dosis que varían de 1 a 120 microgramos por c.c. de cultivo líquido.

Metabolitos bacterianos. Cuando se desarrollan en condiciones favorables cepas de estreptococos recién aisladas, se produce cierto número de substancias que no tienen toxicidad primaria, pero que pueden ayudar al microorganismo a invadir los tejidos. Kendall, Heidelberger y Dawson (1937) han demostrado que la substancia capsular de los estreptococos del grupo A es *ácido hialurónico*. El factor de difusión de Duran-Reynals (1933), encontrado en los lisados y filtrados de cepa de *Streptococcus hemolyticus* de grupo A, ha sido identificado como la enzima *hialuronidasa*. Según Friou y Wenner (1947), la hialuronidasa es específica de grupo y antigénica. Muchas cepas del grupo A no producen cantidades demostrables de esta

enzima en cultivo artificial, pero al parecer sí la producen en el organismo, puesto que se encuentra en el suero de casi todos los pacientes restablecidos de infecciones recientes con estreptococos grupo A, y en el suero de muchos individuos normales hay cantidades apreciables de antihialuronidasa. Los estreptococos, al parecer, son los únicos que producen tanto una substancia capsular, ácido hialurónico, como una enzima antagonista, la hialuronidasa (McClean, 1942), que la destruye específicamente; sin embargo, ello puede explicar la anomalía observada por Seastone en 1943 de que las cápsulas aparecían en los cultivos a las dos horas, pero ya no estaban hacia la tercera o cuarta hora. Para información más detallada relativa a esta interesante enzima deberá consultarse la revisión de Meyer (1947).

Tillett y Garner (1933) demostraron que los estreptococos hemolíticos producían en los cultivos una substancia enzimática extracelular, llamada *fibrinolisina*, que disolvía rápidamente la fibrina humana. La fibrinolisina es producida por la mayor parte de las cepas de los grupos A, G y C humanos, pero no por los grupos B, D, E, F y H. No la producen *S. salivarius* ni otros miembros del grupo *viridans*. Hay una correlación excelente entre la producción de fibrinolisina y la virulencia de las cepas. Los estreptococos hemolíticos de los animales producen fibrinolisinas que disuelven la fibrina obtenida de sus propias especies, pero no del hombre. Las preparaciones de fibrinolisina parcialmente purificadas de Tillett (1938) parecen ser de naturaleza proteínica. La fibrinolisina no es primariamente tóxica, pero ciertamente es antigénica cuando se produce en el proceso de la infección natural, puesto que se puede demostrar la presencia de antifibrinolisina en el suero de la mayor parte de los convalecientes de infecciones estreptocócicas agudas.

Cuando los polisacáridos de grupo y los antígenos del tipo M se mezclan con sangre humana que contiene anticuerpos específicos contra estas substancias se produce un fino precipitado (Rothbard, 1945). La extensión y significado de esta reacción en el animal vivo no han sido valoradas.

La zona verde observada alrededor de las colonias de los estreptococos alfahemolíticos se atribuía antiguamente a la acción directa del peróxido de hidrógeno, pero más tarde se creyó en la presencia de un sistema óxidorreductor, en el cual un componente es intracelular. Otros organismos, como neumococos, micrococos y *E. coli*, producen también coloración verde en los medios con sangre por el mismo mecanismo (Hart y Anderson, 1933; Anderson y Hart, 1934).

Exotoxinas. Los graves síntomas generales que tan frecuentemente acompañaban a las infecciones estreptocócicas, aun en ausencia de septicemia y cuando las lesiones locales eran leves, hicieron creer a los primeros investigadores que estos organismos producían venenos poderosos. Las investigaciones subsiguientes han identificado estos venenos como *leucocidina, hemolisina, toxinas eritrogénicas, proteinasa* y *toxina letal.*

Leucocidina. Van de Velde, en 1894, descubrió que los cultivos de *S. pyogenes* en caldo contenían una leucocidina que se podía determinar cuantitativamente por el método del azul de metileno de Neisser y Wechsberg (1900-01). Esta toxina alcanza concentración máxima en caldo con 10% de suero en 10 a 18 horas. Las propiedades de la leucocidina han sido estudiadas por Nakayama (1920), Channon y McLeod (1929), Evans (1931), Gay y Oram (1933) y Todd (1942). Hay desacuerdo acerca de su termolabilidad; según los primeros investigadores se destruye por el calor a 70° C. durante 30 minutos, mientras que otros autores posteriores afirman que resiste estas temperaturas. Gay y Oram publicaron que los clasmatocitos eran resistentes a la acción de la leucocidina y sugirieron que estas células tendrían importancia primordial en la defensa contra la invasión por estreptococos.

Estos investigadores produjeron también antileucocidina inyectando conejos con exudados pleurales provocados en otros conejos por inyecciones intrapleurales de estreptococos.

Según Todd (1942), la leucocidina es idéntica a la estreptolisina O oxígeno-lábil.

Hemolisina. Marmorek (1895), quien primero observó que ciertos estreptococos lisaban los glóbulos rojos, creyó que había una relación entre la virulencia y la actividad hemolítica. La hemolisina se produce con la mayor abundancia en caldo-suero a 37° C.; la máxima concentración se alcanza alrededor de la octava a la décima hora del desarrollo. Los conejos inyectados intravenosamente con 5 ó 10 c.c. de este caldo mueren en 24 a 36 horas con hemoglobinuria; en la necropsia es evidente la hemólisis intravascular (Channon y McLeod, 1929).

Weld (1934-35) hizo una extracción de estreptococos con suero y obtuvo una preparación de hemolisina que mataba a los ratones en dosis tan pequeñas como 0.1 c.c. La toxina era termolábil; se inactivaba a la temperatura de 58° C. en 30 minutos. Todd (1934) describió dos hemolisinas antigénicas y fisiológicamente diferentes que llamó *estreptolisina O oxígeno-lábil* y *estreptolisina S oxígeno-estable*. La estreptolisina oxígeno-sensible se podía reactivar por reducción. Smythe y Harris (1940) aislaron esta estreptolisina relativamente pura y comprobaron que tenía las características de una proteína con una parte del azufre presente en forma de — SH — ⇄ S — S — oxígeno — sistema reductor. El mecanismo de la muerte por la estreptolisina O no es conocido, pero es significativo que Todd (1942); identificara más tarde esta substancia con la leucocidina. La estreptolisina S oxígeno-estable es muy sensible al calor y a los ácidos y causa la muerte por hemólisis intravascular. Se han preparado antitoxinas específicas para cada tipo de estreptolisina; no hay neutralización cruzada (Todd, 1938).

Proteinasa. Frobisher, en 1926, publicó que ciertas cepas de estreptococos hemolíticos, cuando se desarrollaban en medio de carne de Holman, producían una enzima que digiere el músculo. Elliot y Dole (1947) comprobaron que muchas cepas de estreptococos del grupo A producían pequeñas cantidades de esta proteinasa que se parecía a la papaína y era inactivada por el ácido yodoacético. Cantidades mucho mayores de un precursor fueron producidas por los cultivos; podían ser activadas por tratamiento adecuado. Todd (1947) registró títulos bajos de antiproteinasa en el suero de convalecientes de infecciones agudas por *Streptococcus hemolyticus*.

Toxina eritrogénica. Esta toxina causa el eritema rojo difuso de la piel, característico de escarlatina. Savchenko, en 1905, describió la escarlatina como una infección estreptocócica local grave acompañada de toxemia. Reconoció la existencia de estreptococos en caldo en los cultivos de una substancia ligeramente tóxica contra la cual se podía preparar un suero antitóxico. Filtrados tóxicos similares fueron estudiados por Clark y Felton en 1918. La prueba de la existencia de esta toxina fué suministrada por Dick y Dick (1924-25) y Dochez y Sherman (1924). La toxina eritrogénica (toxina de Dick) se puede preparar mezclando los filtrados de cultivos de diversas cepas de estreptococos aislados de pacientes escarlatinosos. Sin embargo, hay una tendencia creciente en el Estado de Nueva York y en otras partes a emplear la raza N. Y. 5 de Dochez como productora de toxina porque este organismo parece elaborar una toxina de gran potencia antigénica. El estreptococo se siembra en caldo de carne de ternera al cual se ha añadido 0.2 por ciento de glucosa y 2 por ciento de proteosa-peptona "Difco". El pH de 8,2 se reduce a pH 7,4 ó 7,6 por esterilización en el autoclave. Después de un desarrollo de siete días a 37° C. se añade 0,5 por ciento de fenol y los microorganismos se separan por filtro de Berkefeld. El filtrado o toxina se valora por inyección intradérmica en la

piel de un hombre que sea susceptible, en la cabra de Saanen o en el conejo blanco de Nueva Zelanda.

La toxina eritrogénica se diferencia netamente de la hemolisina estreptocócica por su mayor resistencia al calor. La mayor parte de la toxina se destruye a una temperatura de 80° C. durante 30 minutos, pero persiste cierta actividad tóxica incluso después de la ebullición durante 30 minutos. La toxina se destruye rápidamente a la temperatura de la habitación (20° C.). El filtrado fresco puede ganar en toxicidad cuando se conserva a 5° ó 10° C.; así se hace notable y finalmente disminuye con lentitud por un período de meses. El álcali de las ampolletas de vidrio y del material de ciertos tapones de goma puede hacer desaparecer rápidamente la toxicidad, sobre todo si la toxina se diluye.

El filtrado tóxico contiene por lo menos dos componentes importantes que dan lugar a las eritrorreacciones cutáneas cuando se inyecta intradérmicamente en el hombre. Uno de éstos es la verdadera *toxina*. Precipita del filtrado por adición de dos volúmenes de alcohol absoluto. Esta toxina precipitada es soluble en cloruro sódico al 0,85 por ciento y puede ser concentrada. La *núcleoproteína* derivada de los cuerpos de los estreptococos es precipitable del filtrado por acidificación a pH 4 a 4,2 con clorhídrico o acético. Las reacciones cutáneas a la toxina sólo tienen valor como índices de susceptibilidad o inmunidad, mientras que las reacciones a la núcleoproteína son de naturaleza alérgica. El componente núcleoproteínico en los filtrados tóxicos de baja potencia puede ser causa de muchos de los resultados contradictorios en los estudios basados en reacciones de Dick efectuados con filtrados brutos.

El formol se combina con la toxina y disminuye su toxicidad, pero también disminuye la propiedad antigénica. Según Ando (1930) y Veldee (1931-32) los individuos Dick-positivos pueden hacerse Dick-negativos por inyecciones de tal *toxoide* o *anatoxina*, pero esto sólo es cierto en cosa del 50 por ciento de los casos. El método usual empleado para preparar este toxoide consiste en añadir 0,3 a 0,4 por ciento de formalina comercial al filtrado tóxico e incubar la mezcla durante ocho semanas a 37° C. La experiencia indica que este toxoide estreptocócico difícilmente se logra que carezca en absoluto de toxicidad. La inmunización con tales toxoides parece ser menos efectiva que por el uso de toxina potente.

Por el método electroforético, Krejci y col. (1942) han demostrado cuatro componentes en el filtrado tóxico bruto y han comprobado que la toxina estaba asociada con el más lento de estos componentes. La toxina ha sido identificada por Barron y col. (1941) como una proteína de bajo peso molecular; por Stock (1942) como una proteína coagulable por el calor, y por Koerber y Bunney (1941) como una substancia libre de proteína.

Proom (1941) precipitó la toxina eritrogénica con antitoxina específica y digirió los flóculos con tripsina; obtuvo un rendimiento de 5 a 10 por ciento de toxina pura. Hottle y Pappenheimer (1941) obtuvieron una toxina escarlatinosa purificada que tenía 0,00023 mg de nitrógeno por unidad floculante y casi 1,3 por 10^8 dosis de cutirreacción por miligramo de nitrógeno. También encontraron que la antitoxina de la escarlatina contiene 0,00093 mg de nitrógeno por unidad floculante.

Los caballos inmunizados con la toxina eritrogénica producen una antitoxina eficaz.

Toxina letal. Harris (1942) aisló del filtrado de cultivos en caldo de estreptococos del grupo A una toxina que producía la muerte inmediata cuando se inyectaba intravenosamente. Esta toxina era totalmente diferente de ambas clases de estreptolisina y fué descrita como una molécula pequeña, no proteínica, soluble en alcohol y resistente a la ebullición. No era antigénica.

Variabilidad. La variación en cepas de estreptococo hemolítico ha sido estudiada por Cowan (1922-24), Todd (1928), Ward y Lyons (1936) y Dawson, Hobby y Olmstead (1938); los últimos describieron las tres fases de variación mucoide (M) → liso (S) → rugosa (R) que Hadley (1937) creyó características de los estreptococos. En gran parte de la literatura el término colonia *mate* ha sido utilizado indistintamente con el de colonia *mucoide*. Las colonias M y F de Ward y Lyons (1936) corresponden a la fase mucosa; las colonias atenuadas M y C son las que pertenecen a la fase lisa.

Generalmente hay una pérdida gradual de virulencia conforme el organismo se modifica en sentido M → S → R; en cambio, en dirección opuesta aumenta la virulencia. Hadley y Wetzel (1943) refirieron la conversión de una variante S de estreptococo alfahemolítico de baja virulencia a fase R, con una dosis letal media para los ratones de 0,7 c.c. Después de once pases consecutivos por el ratón, el organismo se convirtió nuevamente en S, aumentando la virulencia de modo que la dosis letal media se redujo de 0,7 c.c. a 0,005 c.c. El organismo permaneció en la fase S desde el duodécimo pase por el ratón hasta el pase 38 y la virulencia aumentó progresivamente hasta alcanzar una dosis letal media de 0,000 001 c.c.

Estructura antigénica. La clasificación de los diversos tipos de estreptococos es extraordinariamente difícil. Los métodos basados en la simple aglutinación y reacciones de fermentación de carbohidratos, que tan buenos resultados proporcionan en muchos organismos, no solamente han fracasado como métodos de identificación, sino que en realidad han aumentado la confusión. Este estado caótico de la cuestión está siendo remediado gradualmente por los estudios intensivos de investigadores como Lancefield, Griffith, Sherman y Evans, cada uno de los cuales ha ideado y aplicado técnicas diferentes al problema de la clasificación.

El descubrimiento hecho en 1933 por Rebeca Lancefield de que las diversas cepas de estreptococos betahemolítico producían polisacáridos que eran específicos de grupo y no de tipo, permitió diferenciar estos estreptococos en subgrupos que podían relacionarse con el origen del organismo y su grado de poder patógeno para el hombre y el animal. Estos polisacáridos son obtenidos por extracción ácida de cultivos hervidos; los extractos son empleados como antígenos en reacciones de precipitación usando sueros de conejo inmunizados para los diferentes tipos de estreptococos. En la tabla adjunta se indican algunas de las características de cada tipo.

CLASIFICACIÓN ANTIGÉNICA DE LOS ESTAFILOCOCOS

GRUPOS	TIPOS	ESPECIE	FUENTE Y HABITAT	REFERENCIAS
A	Por lo menos 40 tipos de Griffith	*S. pyogenes*	Garganta y vías respiratorias humanas. Septicemia, amigdalitis, escarlatina, fiebre puerperal, neumonía estreptocócica, erisipela.	Lancefield, 1933-34. Griffith, 1927-35.
B	4 tipos	*S. agalactiae* (*S. mastitidis*)	Mastitis en las vacas. Leche. Ocasionalmente de garganta y vagina humanas.	Lancefield, 1938. Fry, 1938.
C	1 tipo	*S. equi*	Catarro en caballos. Ocasionalmente en otros animales.	Lancefield, Griffith. Edwards, 1934. Stableforth, 1945.
	2 tipos	*S. dysgalactiae*	Enfermedades en animales domésticos y de laboratorio.	

Grupos	Tipos	Especie	Fuente y habitat	Referencias
C	8 tipos	"C. humano"	Nariz, garganta, vagina humanas. Erisipela, fiebre puerperal. Animales domésticos.	Simmons y Keogh, 1940.
D	7 tipos	*S. faecalis*	Heces del hombre y animales. Leche y productos lácteos. Endocarditis bacteriana subaguda.	Lancefield, 1941. Grumbach y Schnetz 1938. Stableforth, 1938. Sherman, 1937.
		S. durans	Intestino humano, leche y productos lácteos.	
		S. zymogenes	Heces humanas. Endocarditis bacteriana subaguda	
		S. liquefaciens	Heces, vagina, productos lácteos, plantas. Endocarditis bacteriana subaguda.	
E	1 tipo		No asociada con enfermedad; ubre de bovinos. Leche.	Lancefield, 1941.
F	4 tipos	Estreptococo betahemolítico	Garganta humana, fístulas, abscesos, vagina, heces. Nefritis glomerular.	Lancefield y Hare, 1935. Hare, 1935. Bliss, 1937.
G	2 o más tipos	*S. anginosus*	Nariz humana, garganta, vagina, heces. Fiebre puerperal, amigdalitis, moquillo de los perros.	Lancefield y Hare, 1935. Lancefield, 1941. Bliss, 1937.
H	1 tipo		Nariz, garganta, heces humanas. No asociado con enfermedad.	Hare, 1935.
K	1 tipo		Garganta humana. No asociado con enfermedad.	Lancefield, 1941.
L M		pequeño	Garganta humana, perro, cerdo. Amígdalas de perros.	White, Rudd, Ward, 1939. Fry, 1945.
N*		*S. lactis*	Leche, queso. Sin relación con enfermedad.	Sherman, 1937. Shattock & Mattick, 1943.
	8 tipos	Grupo viridans. Véase cuadro de la página 255	Garganta humana, heces. Endocarditis bacteriana subaguda.	Sherman y col., 1943. Solowey, 1942. Shattock y Mattick, 1943.
		Estreptococos microaerófilos	Piel, abscesos subcutáneos, gangrena de Meleney, supuración pulmonar.	Meleney, 1931-35.
	Por lo menos 4 tipos	Estreptococos anaerobios.	Vagina normal, fiebre puerperal, empiema, lesiones gangrenosas.	Harris & Brown, 1929. Colebrook & Hare, 1933. Stone, 1940.

* No hemolítico pero tiene grupo hidrocarbonado.

Los estreptococos del grupo D contienen variedades hemolíticas y no hemolíticas de *Streptococcus faecalis* (Sherman, 1937-38). Estos organismos en la literatura francesa y americana suelen llamarse enterococos (Sherman, 1938).

ALGUNOS CARACTERES SELECCIONADOS QUE MUESTRAN LAS INTERRELACIONES DE LOS ENTEROCOCOS

ESPECIES	HEMÓLISIS EN AGAR-SANGRE	LICUEFACCIÓN DE LA GELATINA	ACCIÓN REDUCTORA INTENSA	FERMENTACIÓN DE LA GLICERINA	FERMENTACIÓN DE LA MANITA	FERMENTACIÓN DE LA SORBITA	FERMENTACIÓN DE LA SACAROSA
S. faecalis	—	—	+*	±	+	+	±
S. liquefaciens	—	+	+*	+	+	+	+*
S. zymogenes	+	±	+*	+	+	+	+*
S. durans	+	—	—	—	—	—	—*

* Variaciones ocasionales del tipo de reacción: las extremadamente raras no se indican. (Según Sherman, *J. Bact.*, 1938, 35:81.)

Estamos de acuerdo con Topley y Wilson (1946) en colocar los organismos del tipo *Streptococcus lactis* en el grupo N, puesto que tienen un polisacárido específico de grupo, aunque no producen hemolisinas (Sherman y col., 1937-43; Shattock y Mattick, 1943).

ALGUNOS CARACTERES SELECCIONADOS DE STRETOCOCCUS FAECALIS Y STREPTOCOCCUS LACTIS

ESPECIES	GRUPO D DE LANCEFIELD	DESARROLLO A 45° C.	DESARROLLO EN ClNa AL 6,5%	DESARROLLO A pH 9,6	FERMENTACIÓN DE LA SORBITA	FERMENTACIÓN DE LA GLICERINA	FERMENTACIÓN DE LA MANITA
S. faecalis	+	+	+	+	+	∓	+
S. lactis	—	—	—	—	—	—	±

* (Según Sherman, *J. Bact.*, 1938, 35:81.)

Los estreptococos alfahemolíticos de tipo *Streptococcus salivarius* no tienen polisacárido común, pero por conveniencia se han incluído en la tabla adjunta con los estreptococos microaerófilos y anaerobios.

ESTREPTOCOCOS VIRIDANS: CARACTERES ADICIONALES

ESPECIE O VARIEDAD	DESARROLLO EN ClNa al 2%	HIDRÓLISIS DEL ALMIDÓN	HIDRÓLISIS DEL HIPURATO SÓDICO	DESDOBLAMIENTO DE LA ESCULINA	LICUEFACCIÓN DE LA GELATINA	COAGULACIÓN DE LA LECHE	pH FINAL EN CALDO GLUCOSADO	PRODUCCIÓN DE ÁCIDO DE: ARABINOSA	MALTOSA	SACAROSA	LACTOSA	TREHALOSA	RAFINOSA	INULINA	GLICERINA	MANITA	SORBITA	SALICINA
S. salivarius	+	—	—	±	—	±	5,4-4,0	—	+	+	+	±	±	±	—	—	—	±
S. equinus	+	±	—	+	—	—	4,5-4,0	—	+	±	—	±	±	±	—	—	—	±
S. bovis	+	+	—	+	—	±	4,5-4,0	±	+	+	+	±	+	±	—	±	±	+
Variedad de *S. bovis*	+	—	—	+	—	±	4,5-4,0	—	+	+	+	±	+	±	—	±	—	+
S. thermofilus	—	—	—	—	—	+	4,5-4,0	—	—	+	+	—	±	—	—	—	—	—

* (Según Sherman, *Bact. Rev.*, 1937, 1:3.)

La técnica de aglutinación en portaobjetos de Griffith (1927-35), usando sueros absorbidos específicamente, ha servido para establecer subtipos con los grupos más grandes; así se distinguen, por lo menos, 40 subtipos en el grupo A de Lancefield.

Lancefield (1940-41) ha descrito dos proteínas específicas de tipo, la M y la T. La reacción ordinaria de aglutinación depende del antígeno T. El factor M, que se identifica por pruebas de precipitación, está presente en las colonias de los tipos mate o mucoide. Los anticuerpos para el antígeno M también aglutinan, estimulan la fagocitosis y proporcionan protección a los ratones contra la infección experimental por estreptococo específico de tipo Lancefield y Dole (1946).

La clasificación por el método de aglutinación en portaobjetos y por las precipitinas de tipo para las proteínas M ha servido para aumentar el número de tipos hasta producir confusión, sin añadir información alguna acerca de relaciones entre tipos determinados y formas clínicas particulares de infección estreptocócica. Sin embargo, los métodos de clasificación específica son de gran valor en los estudios encaminados a determinar el origen o seguir la diseminación de un organismo de paciente a paciente en las epidemias. Desde el punto de vista clínico, se atribuye mayor significación a los grandes subgrupos de Lancefield y a otras características biológicas (Edwards, 1935; Sherman, 1937-38-43; y Evans, 1938-40-44-47).

La tabla adjunta de Evans muestra que el 96,9 por ciento de 552 cepas de estreptococos betahemolíticos aislados de infecciones humanas graves pertenecen al grupo de polisacáridos A de Lancefield. Los estudios de fermentación con lactosa, manitol y salicina separaron 326 de estas cepas del grupo A en cinco subgrupos. La tabla de Evans muestra la relación entre el tipo de aglutinación, el subgrupo fermentativo y la forma clínica de la enfermedad en 326 cepas de estreptococos betahemolíticos del grupo A. Los datos demuestran que los tipos de aglutinantes 11, 12, 13 y 27 de la garganta humana tienen tendencia a producir mastitis bovina y después causan epidemias de afecciones de la garganta cuando la leche cruda infectada es consumida por el hombre. Brown y Schaub (1944) sugirieron que las cepas del grupo A positivas al manitol pueden haber sido origen de otras cepas del grupo A. En una larga serie de estudios (1944 a 1947) Evans ha acumulado pruebas, por estudios antigénicos, protectores y de fermentación de los azúcares, que sugieren que las cepas del grupo A negativas para lactosa derivaron de las cepas animales del grupo C en el siguiente orden: *S. equi* → *S. equisimilis* → grupo lactosa-negativo → grupo *pyogenes*, grupo *epidemicus*.

Frecuencia comparativa de los estreptococos de los grupos A y C en las infecciones humanas

Origen	Número de cepas	Grupo A por ciento	Grupo C por ciento
Escarlatina	232	98,7	1,3
Amigdalitis y faringitis epidémicas	52	100,0	0
Septicemia puerperal	19	100,0	0
Reumatismo agudo y artritis reumática	55	92,7	7,3
Erisipela	51	94,1	5,9
Enfermedades diversas *	143	95,1	4,9
Total	552	96,9	3,1

* Enfermedades supurativas agudas y otras infecciones no incluídas en las enfermedades enumeradas. (Según Evans, *J. Bact.*, 1944, 48:267.)

En garganta y vagina humanas se aislaron estreptococos del grupo B, rara vez patógenos para el hombre. El grupo C tiene tres subgrupos; uno contiene organismos patógenos para el hombre y ha sido llamado C-humano. Simmons y Keogh (1940) estudiaron 169 cepas humanas y establecieron 8 tipos serológicos. Uno de los tipos

causa erisipela en el hombre. Birkhaug (1925) halló que el 91 por ciento de 34 cepas aisladas de erisipelas pertenecían a un grupo inmunológico. Tres cepas de Birkhaug fueron identificadas por Evans (1947) como C-humanas; según el autor, se trataba de una epidemia local, pues la mayor parte de las cepas de estreptococos betahemolíticos aislados de casos de erisipela en el país pertenecen al grupo A de Lancefield.

Hansen (1943) propone el uso de la prueba fibrinolítica para determinar si una raza C, recién aislada del hombre, es de origen humano o animal, pues las cepas animales disolverán la fibrina de la especie animal correspondiente, no la del hombre.

La endocarditis bacteriana subaguda puede ser causada por cepas de estreptococos del grupo D, estreptococos betahemolíticos, organismos del grupo *viridans* y estreptococos microaerófilos y anaerobios. La fiebre puerperal es causada por organismos del grupo A, C-humana, G y elementos del grupo de estreptococos anaerobios.

Algunas infecciones han sido causadas por organismos del grupo F, pero los grupos B, E, H, K, L, M y N no han sido referidos como patógenos para el hombre.

Como los estreptococos del grupo A contienen casi todas las cepas importantes de estreptococos patógenos para el hombre, su análisis antigénico es de la mayor importancia. La substancia "M" de Lancefield es de naturaleza proteínica, pero la "T" resiste a la digestión proteolítica (Kabat, 1943). Sevag y sus colaboradores (1941) disgregaron las células estreptocócicas del grupo A con vibraciones sónicas y aislaron de la solución, por centrifugación a alta velocidad, partículas micromoleculares compuestas de lípido, proteína, carbohidrato, ácido nucleico y un pigmento verde. Todo el complejo era antigénico y el carbohidrato específico de grupo.

RELACIÓN ENTRE LOS TIPOS AGLUTINANTES Y SUBGRUPOS FERMENTATIVOS EN 326 CEPAS DEL GRUPO A

TIPO DE AGLUTINACIÓN			SUBGRUPO FERMENTATIVO I	II	III	IV	V	DESIGNACIÓN
TIPO	NÚM.	LACTOSA	+	+	+	—	—	
		MANITA	—	+	—	+	—	
		SALICINA	—	+	—	+	+	
10	33		2		31			*S. scarlatinae*
3	21		21					*S. potens* n.sp.
6	24			15		9		
14	17		9	1			7	
15	2						2	
17	24		11	3		9	1	Grupo Lactosa deficiente
18	13						13	
19	18		16				2	
23	26		19	4			3	
11	17		17					
12	8		8					Grupo *epidemicus*
13	18		16				2	
27	15		15					
1	31		31					
2	10		10					
4	11		11					
5	6		6					
8	4		4					
9	7		7					
22	2		2					Grupo *pyogenes*
24	1		1					
25	4		3	1				
26	2		2					
28	2		2					
29	2		2					
30	8		7				1	
Total	326		222	24	31	18	31	

(Según Evans. *J. Bact.*, 1947, 53:489.)

Rantz y Randall (1947) han descrito un nuevo antígeno, llamado "X", que se separa fácilmente del polisacárido A y difiere de los antígenos M y T por no ser específico de tipo. Está estrechamente relacionado con los extractos M y quizá con las núcleoproteínas estudiadas por Zittle en 1942. Los pacientes con infecciones estreptocócicas causadas por diversos tipos específicos desarrollan un anticuerpo común anti-X durante la convalecencia.

Infecciones de los animales inferiores. Las infecciones *producidas artificialmente* en los animales inferiores han sido utilizadas durante mucho tiempo para medir el *poder patógeno* y la *virulencia* de los estreptococos. Las diferentes cepas de estreptococos bovinos muestran variaciones considerables en la virulencia; hay unos pocos organismos, patógenos para los animales y el hombre, que presentan análogas fluctuaciones de virulencia.

El carácter o la gravedad de la lesión en el hombre proporciona poca orientación en cuanto a la virulencia del organismo para los animales. El cultivo prolongado sobre medios artificiales suele disminuir la virulencia de un estreptococo por variación. El paso de un estreptococo a través de conejos o ratones suele aumentar su virulencia para los animales susceptibles en general.

Entre los animales domésticos, los más susceptibles a la infección estreptocócica experimental son los ratones blancos y los conejos. Los cobayos y las ratas se infectan con menos facilidad; los animales domésticos mayores, ganado vacuno, caballos, cabras, gatos y perros, son relativamente refractarios a la mayor parte de las cepas de origen humano. Entre las aves prevalece inmunidad casi completa para las infecciones por estreptococo.

La naturaleza de las lesiones consecutivas a la inoculación a los animales depende del tipo de ésta, de la dosis administrada y, sobre todo, del grado de virulencia del germen empleado. Las inoculaciones subcutáneas pueden dar lugar a un simple absceso localizado o a una septicemia general grave con lesión local apenas perceptible. La inoculación subcutánea de ratones puede ocasionar una septicemia general seguida de muerte en 36 a 48 horas. La inoculación de conejos en la base de la oreja con estreptococos virulentos puede resultar en la formación de una lesión que histológicamente no cabe distinguir de la erisipela del hombre.

Esta observación de Fehleisen (1882) ha sido confirmada repetidas veces, principalmente por Birkhaug (1925), quien produjo erisipelas típicas en la piel de los costados y del abdomen de conejos por inoculación intracutánea con cultivos de estreptococos hemolíticos aislados en caso de erisipela en el hombre. Marbaix (1892) demostró que estreptococos de otras fuentes inyectados intracutáneamente a conejos dan lugar a la producción de lesiones seudoerisipelatosas.

Las cepas de estos organismos que han matado a seres humanos no precisan tener necesariamente una alta virulencia para conejos o ratones, aunque ocurren excepciones. Generalmente resulta necesario pasar tales organismos a través de los animales mencionados hasta lograr virulencia para que los mate rápidamente. Hay cepas que adquirieron rápidamente extremado poder patógeno para los animales, mientras que con otras sólo se puede alcanzar un grado moderado de virulencia. Estas virulencias no están basadas en algo que pueda analizarse por los métodos actualmente conocidos. La virulencia surgida a través de ratones o conejos suele ser elevada también para otros animales. Aunque las infecciones estreptocócicas son menos comunes entre los animales inferiores que en el hombre, ocurren *infecciones naturales* de graves consecuencias.

Las infecciones estreptocócicas no son raras en *conejos*. Muchos conejos aparentemente normales tienen aglutininas antiestreptocócicas en su sangre.

Los *cobayos* sufren un tipo crónico y con frecuencia mortal de linfadenitis, en la cual los ganglios linfáticos cervicales y abdominales llegan a convertirse en grandes sacos de pus caseoso. Boxmeyer (1907) observó por primera vez el carácter epizoótico de esta enfermedad y aisló un estreptococo hemolítico de las lesiones. Las colonias de este estreptococo en agar-sangre al principio son mucilaginosas, de aspecto vesicular. Cuando envejecen se colapsan en pliegues ondulados y concéntricos, como puede verse en las fotografías que ilustran la publicación de Cunningham sobre esta enfermedad (1929).

Los *gatos* son a veces víctimas de septicemia mortal transmisible, con evacuaciones mucopurulentas, ocasionada por un tipo de estreptococo hemolítico (Bayne-Jones, 1922).

Kutschera (1908) ha descrito una enfermedad epizoótica de los *ratones blancos*.

Moore (1916) señaló que un estreptococo anaerobio era causa de septicemia en las *gallinas*. Esta enfermedad era transmisible y casi siempre mortal.

En *caballos*, mulos y asnos hay una enfermedad contagiosa aguda de las vías respiratorias superiores, conocida familiarmente como "catarro" (en inglés *strangles*, en alemán *Druse)*, causada por *Streptococcus equi*, raza hemolítica fermentadora de la salicina. Este organismo fué reconocido primero por Schütz (1888) como causante de la enfermedad. Esta ataca principalmente a los animales jóvenes y se caracteriza por fiebre, debilidad, inflamación catarral aguda de la mucosa nasal y faringea y adenitis local. Los ganglios linfáticos submaxilares suelen estar afectados. Puede presentarse neumonía. Debe hacerse notar que este microorganismo es por completo diferente de *Streptococcus equinus*, saprófito, productor de pigmento verde, presente en el estiércol de caballo. Hay infecciones estreptocócicas de la uretra en los garañones, que causan infecciones secundarias de los genitales de las yeguas e impiden la fecundación (Zinsser, Bayne-Jones).

La infección estreptocócica de las ubres de las vacas es enfermedad grave. Esta forma de mastitis invalida a las vacas para la producción de leche; la obtenida de vacas infectadas puede producir enfermedad en el hombre. Diversos tipos de estreptococos piógenos, o estreptococos con diversos efectos patógenos, pueden producir mastitis en las vacas. Uno de ellos, el llamado *Streptococcus epidemicus*, es el estreptococo hemolítico responsable de epidemias de faringitis en el hombre. La escarlatina ha sido transmitida repetidamente por la leche.

Streptococcus lactis (antiguamente conocido como *Bacillus acidi lactici)* probablemente no se halla en las ubres; no es patógeno.

Tipos clínicos de infección en el hombre. Los estreptococos son ubicuos e indudablemente causan mayor variedad de tipos clínicos de enfermedad que cualquier otro microorganismo. Pueden producir enfermedad en todos los órganos y tejidos del cuerpo, como los estafilococos. Además de estas infecciones generales, los estreptococos causan enfermedades específicas, como escarlatina, erisipela, afecciones epidémicas de garganta y endocarditis bacteriana subaguda. Los estreptococos probablemente tienen importancia en la fiebre reumática y artritis reumatoide, pero su papel en estas infecciones no ha sido plenamente establecido. Las enfermedades estreptocócicas específicas serán tratadas en el siguiente capítulo.

Las infecciones de la piel con diversos tipos de estreptococos hemolíticos ocasionan *ántrax*, *impétigo* estreptocócico, *celulitis*, *linfangitis* y *erisipelas*. En otros casos, a consecuencia de arañazos o rasguños de la piel, el estreptococo hemolítico produce una lesión pequeña, roja, infiltrada, edematosa y de aspecto casi insignificante que puede ser el comienzo de una *septicemia* rápidamente fatal. Los cirujanos y los anatomopatólogos en general corren el peligro de infecciones de este tipo ya que con

frecuencia se exponen al contagio por cepas de estreptococos de virulencia probada. El peligro de infecciones estreptocócicas de las *heridas quirúrgicas* antes de la introducción de las sulfonamidas y la penicilina era fuente constante de ansiedad para el cirujano.

Los estreptococos frecuentemente infectan las mucosas de las vías respiratorias superiores causando *sinusitis, amigdalitis, faringitis, laringitis, otitis media* y *mastoiditis.* Las propagaciones desde el oído medio o desde las celdillas mastoideas con frecuencia originan *meningitis* y *abscesos cerebrales.* La invasión desde la faringe a las estructuras más profundas puede originar *abscesos periamigdalinos, angina de Ludwig* o *mediastinitis.*

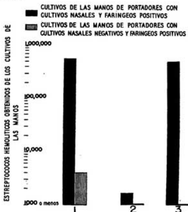


Fig. 42. Cultivos de portadores de estreptococos.

Los cultivos de cada portador fueron hechos sucesivamente: 1) tres horas después del último lavado normal de las manos; 2) inmediatamente después de cepillar las manos con jabón y agua, mojarlas con alcohol de 70° y lavarlas con agua; 3) inmediatamente después de sonar la nariz en un pañuelo estéril. (Según Hamburger y Green, *J. Infect. Dis.*, 1946, 79:33.)

La *neumonía estreptocócica* primaria, generalmente de tipo bronquial o lobar, no es rara. Los estreptococos invaden con frecuencia la pleura desde los pulmones e inician un *empiema* o producen metástasis en el cerebro e inician meningitis, abscesos, o ambos. En las condiciones de hacinamiento que ocurren en el ejército o estaciones de refugiados, el porcentaje de portadores de estreptococos hemolíticos puede hacerse tan alto como del 70 al 89 por ciento (Irons y Marine, 1918; Levy y Alexander, 1918) y se pueden desarrollar *epidemias* de neumonía estreptocócica.

Los estreptococos son deglutidos con la saliva y están asociados con otros organismos en infecciones de vesícula biliar, hígado, apéndice y peritoneo.

Los estreptococos, tanto de variedades aerobias como anaerobias, son la causa principal de la septicemia puerperal; serán tratados con mayor detalle en el capítulo siguiente.

La *osteomielitis* puede ser causada por estreptococos hemolíticos, pero con menor frecuencia que por *Staphylococcus aureus*.

Los estreptococos hemolíticos son sobre todo *invasores secundarios* sobreañadidos a otras enfermedades producidas por bacterias y, en particular, por virus. Una infección estreptocócica secundaria en la difteria aumenta considerablemente la gravedad de la enfermedad. La muerte en casos de viruela suele resultar de infección con estreptococos, al principio local, finalmente de la corriente sanguínea. La mayor parte de las muertes registradas en las epidemias de *sarampión* e *influenza* son causadas por infecciones secundarias con estreptococos hemolíticos (MacCallum, 1918).

COMPARACIÓN DE LAS PROPORCIONES DE PORTADORES DE DIVERSOS GRUPOS DE LANCEFIELD DE ESTREPTOCOCOS BETAHEMOLÍTICOS EN 3 853 SOLDADOS NORMALES Y 3 026 SOLDADOS HOSPITALIZADOS CON INFECCIONES RESPIRATORIAS

ORGANISMO	PROPORCIÓN EN SOLDADOS NORMALES				PROPORCIÓN EN SOLDADOS HOSPITALIZADOS *
	marzo-mayo 1944 %	enero 1945 %	marzo 1945 %	1944-45 Combinados %	1943-45 %
Grupo A	5,2	4,6	6,7	5,4	9,5
Grupo B	—	0,2	0,3	0,1	0,2
Grupo C	1,0	1,9	1,5	1,4	1,8
Grupo F	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1
Grupo G	1,6	2,3	0.7	1,6	1,4
Grupo L	—	—	—	—	0,1
Combinación	—	—	—	—	0,1
No agrupados	0,1	0,2	0,3	0,2	0,7
Proporción total de portadores	8,0	9,4	9,7	8,9	13,9
Número de cultivos tomados	1 585	1 229	1 039	3 853	3 026

* Cultivos a la admisión.
(Según Dingle y col., *New England J. Med.*, 1947, 236:157.)

RESPUESTA DE ANTICUERPOS EN PACIENTES CON INFECCIONES RESPIRATORIAS QUE ALOJAN ESTREPTOCOCOS BETAHEMOLÍTICOS

ORGANISMO	Número de pacientes en quienes se aisló el germen en alguno de los tres cultivos	Número de pacientes examinados por su respuesta en anticuerpos	Respuesta de anticuerpos *	
			Núm.	Por ciento
Grupo A	301	283	139	49,1
Grupo B	6	5	0	
Grupo C	47	43	7	15,9
Grupo F	11	11	0	
Grupo G	44	41	5	12,1
Grupo H	1	1	0	
Grupo L	1	1	1	
No agrupados	33	24	2	8,3
Combinaciones:				
Grupo A y otros	19	18	7	38,8
Otros	2	2	0	0
Totales	465	429	161	
Promedios				37,4

* Antiestreptolisina o antifibrinolisina.
(Según Dingle y col., *New England J. Med.*, 1947, 236:157.)

Transmisión. Desde muchos años se sabe que el 8 ó 10 por ciento de individuos aparentemente normales llevan estreptococos hemolíticos en su garganta. En condiciones de hacinamiento, especialmente en los meses de invierno, cuando prevalecen los catarros por virus, la proporción de portadores puede aumentar hasta el 75% (Irons y Marine, 1918; Levy y Alexander, 1918). Las investigaciones epidemiológicas durante la Segunda Guerra Mundial en los ejércitos de los Estados Unidos, han demostrado de una manera concluyente que los portadores ordinarios de garganta sólo expelen algunos estreptococos con el aire y pueden ser hospitalizados en los pabellones generales de Medicina.

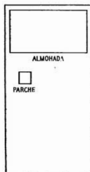


FIG. 43. RECOLECCIÓN DE ESTREPTOCOCOS.

Esquema que muestra la posición de la "pieza" de algodón de 12 × 12 cm, adherida a la sábana de abajo. La pieza fué dejada en posición durante 20-24 horas para recoger los estreptococos. (Según Hamburger y col., *J. Infect. Dis.*, 1945, 77:68.)

El *portador nasal* es el "portador peligroso" (Hare, 1941; Hamburger y col., 1944-46; Lemon, 1947). No solamente difunde cientos de miles de estreptococos por el aire, como se demuestra en la tabla siguiente, sino que infecta sus manos, ropas y otros objetos inanimados (figuras 42, 43, 44 y 45).

Gordon, en 1932, sospechó la importancia del portador nasal en la escarlatina cuando observó que pacientes escarlatinosos con rinitis o sinusitis solían transmitir la enfermedad a otros miembros de sus familias después de salir del hospital. Los estudios de Hamburger y colaboradores (1946) y de Robertson (1947) en los campos militares demostraron en forma concluyente que los portadores nasales eran peligrosos y debían ser aislados en pabellones especiales. El mecanismo de transmisión era principalmente por el aire. Cruickshank (1935) observó que los estreptococos recogidos de las quemaduras eran del mismo tipo que los que podían ser cultivados de la nasofaringe de otros pacientes de la sala. Hamburger y colaboradores (1944) encontraron que la infección estreptocócica secundaria en pacientes con sarampión correspondían al tipo estreptocócico específico recogido del aire en la sala del hospital y que el número de tales gérmenes presentes en el aire determinaba la frecuencia de la infección cruzada.

COMPARACIÓN DE PORTADORES NASALES Y DE GARGANTA

Protocolos de dos pacientes en quienes se practicaron todos los análisis el mismo día

DIAGNÓSTICO	NASOFARINGITIS ESTREPTOCÓCICA	ESCARLATINA
Cultivo de garganta (hisopillo)	+++	+++
Cultivo de nariz (hisopillo)	+++	0
Total de estreptococos hemolíticos recogidos de:		
Resoplido nasal	5 350 000	50
Estornudo nasal en pañuelo estéril	28 500	0
Estornudo bucal en pañuelo estéril	2 100	0
Tos en pañuelo estéril	950	0
Manos	344 000	0
Manos después del lavado	0	0
Manos después de sonar la nariz en pañuelo estéril inmediatamente después de lavadas	214 000	200
Saliva	2 000 por c.c.	10 000 por c.c.
Pieza de algodón en la sábana inferior	22 500	0

(Según Hamburger y Green, *J. Infect. Dis.*, 1946, 79:33.)

Coburn (1944) y Schwentker y colaboradores (1943) han puesto de relieve la importancia de otra característica de los estreptococos, a saber, la capacidad de llegar a establecer en un nuevo huésped en condiciones naturales. Esta *transmisibilidad* depende en parte de la producción de ciertos productos metabólicos y tóxicos y en parte de factores desconocidos. Es de observación común que muchas cepas con alto poder invasor tóxico raramente se extiendan de paciente a paciente, mientras que muchas cepas que producen trastornos relativamente leves difunden con rapidez de uno a otro paciente.

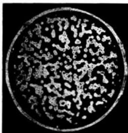


FIG. 44. ESTREPTOCOCOS DE LA PIEZA DE ALGODÓN DEL PACIENTE CON CULTIVO DE NARIZ POSITIVO.

Los dos pacientes de este experimento tenían cultivos de garganta intensamente positivos. La "pieza" (figura 43) del paciente con cultivo de nariz positivo contenía muchos estreptococos. (Según Hamburger y col., *J. Infect. Dis.*, 1945, 77:68.)

Productos biológicos. Los sueros antibacterianos específicos nunca fueron muy útiles y ya han sido abandonados. Los sueros antitóxicos para erisipela y escarlatina eran eficaces, pero desde la introducción de las sulfonamidas y la penicilina raramente se han empleado.

En la *prueba de Dick* se inyecta intradérmicamente en la superficie de flexión del antebrazo 0,1 c.c. de una toxina de tipo que contiene una dosis cutánea de prueba. La presencia, después de 24 horas, de una zona circular u oval de enrojecimiento que tenga por lo menos un centímetro de diámetro se considera como reacción positiva e indica *susceptibilidad para la escarlatina*. Como en el material de prueba para la cutirreacción de Dick hay una toxina específica y una núcleoproteína, debe practicarse una reacción testigo en el otro brazo con toxina inactivada al autoclave. Una reacción *testigo positiva* indica estado de hipersensibilidad para alguna substancia que no es la toxina y que se halla en el caldo de cultivo del estreptococo. A veces un paciente puede presentar reacción alérgica y susceptibilidad a la toxina; ello se determinará por el mayor tamaño de la zona roja en el sitio donde se inyectó la toxina no calentada.



FIG. 45. ESTREPTOCOCOS DE LA PIEZA DE ALGODÓN DEL PACIENTE CON CULTIVO DE NARIZ NEGATIVO.

La "pieza" del paciente con cultivo de nariz negativo contenía solamente pocos estreptococos. (Según Hamburger y col., *J. Infect. Dis.*, 1945, 77:68.)

Se puede producir *inmunidad activa* tanto por pequeñas dosis repetidas de toxina de Dick como por inyección de un *toxoide* preparado tratando la toxina con formol, pero el toxoide es menos eficaz que la toxina para provocar inmunidad.

Schultz y Charlton, en 1918, observaron que la inyección de 1 c.c. de suero sanguíneo de un individuo normal en la piel de un paciente que tenía eritema típico de la escarlatina hacía desaparecer o palidecer dicho eritema alrededor del área de la inyección.

La prueba se efectúa ahora con 0,5 c.c. de un buen suero de convaleciente o 0,1 c.c. de antitoxina potente; y el aclaramiento del área eri-

tematosa debe esperarse dentro de 6 a 8 horas, pero puede retardarse tanto como 14 horas. Una *reacción de Schultz-Charlton* positiva establece el diagnóstico de escarlatina y es útil para diferenciar el eritema específico de los exantemas similares causados por la rubéola y ciertas idiosincrasias.

Se han preparado *estreptalérgenos* de caldos en los cuales crecieron cepas de estreptococos aislados de pacientes con erisipelas y otras infecciones estreptocócicas y se han utilizado en cutirreacciones para determinar la existencia de *hipersensibilidad* en casos de erisipelas recurrentes (Amoss, 1931). Estos estreptalérgenos son parcialmente específicos de tipo; los pacientes deben ser probados con 6 a 8 preparaciones de diferentes cepas de estreptococos.

Tratamiento. La mayor parte de las cepas de estreptococos betahemolíticos son inhibidos fácilmente dentro del organismo por las sulfonamidas y la penicilina. Deben evitarse dosis inadecuadas e intermitentes de sulfonamidas para prevenir el desarrollo de cepas resistentes a la droga. Se aislaron cepas resistentes de estreptococos en hombres de campos militares donde se administró a todo el personal diariamente un gramo de sulfadiacina. Afortunadamente la resistencia a la penicilina es rara y solamente se observa después de períodos prolongados de administración.

El uso de antitoxina en la escarlatina será tratado en el próximo capítulo.

Las transfusiones de sangre son útiles en muchos casos de manera específica o inespecífica. Lyons y Ward (1936) han publicado mejorías notables en infecciones estreptocócicas graves logradas con transfusiones de donadores cuya sangre en pruebas *in vitro* aumentaba el poder fagocítico de los leucocitos de los pacientes contra el estreptococo infectante.

El tratamiento de la escarlatina, erisipela, septicemia puerperal, endocarditis bacteriana subaguda, infección focal, fiebre reumática, artritis reumatoide e infecciones estreptocócicas microaerófilas y anaerobias será tratado en el próximo capítulo.

Profilaxis. La inmunización artificial activa no es método práctico de prevenir las infecciones estreptocócicas, a causa del gran número de tipos específicos de estreptococo. La inmunización activa con toxina de Dick o con toxoide se puede usar para neutralizar la toxina eritrogénica pero no tiene efecto sobre los estreptococos mismos y no evitará el desarrollo de un tipo ordinario de infección estreptocócica por cepas capaces de producir toxina eritrogénica.

Los peligrosos portadores nasales de estreptococos hemolíticos deben ser estrictamente aislados. El problema de eliminar los estreptococos patógenos del aire de las salas de operaciones ha sido resuelto por Hart (1941) con el uso de luz ultravioleta. Wells (1942) ha utilizado la luz ultravioleta para suprimir los organismos de las salas escolares y Robertson (1947) ha tenido bastante éxito al desinfectar el aire en las salas de los hospitales utilizando pulverizaciones de trietilenglicol.

BIBLIOGRAFIA

Abraham, E. P., Chain, E., Fletcher, C. M., Gardner, A. D., Heatley, N. G., Jennings, M. A., and Florey, H. W. *Lancet*, 1941, 2:177.
Amoss, H. L. *Ann. Int. Med.*, 1931, 15:500.
Anderson, A. B., and Hart, P. D'A. *J. Path. & Bacteriol.*, 1934, 39:465.
Ando, K. *J. Immunol.*, 1930, 19:223, 465.
——— y col. *J. Immunol.*, 1929, 17:361; 1930, 18:223, 257, 267.
——— and Kurauchi, K. *J. Immunol.*, 1930, 18:341.
——— and Ozaki, K. *J. Immunol.*, 1930, 19:535.
Barron, E. S. G., Dick, G. F., and Lyman, C. M. *J. Biol. Chem.*, 1941, 137:267.
Bayne-Jones, S. *J. Infect. Dis.*, 1922, 31:474.
Bernheimer, A. W., and Pappenheimer, A. M., Jr. *J. Bacteriol.*, 1942, 43:481, 495.
Billroth, T. *Untersuchungen über die Vegetationsformen von Coccobacteria Septica*, Berlin, 1874.

Birkhaug, K. E. *Johns Hopkins Hosp. Bull.*, 1925, 36:248.
Bliss, E. A. *J. Bacteriol.*, 1937, 33:625.
Bliss, W. P. *Johns Hopkins Hosp. Bull.*, 1920, 31:173.
Boxmeyer, C. H. *J. Infect. Dis.*, 1907, 4:657.
Brown, J. H. Monographs Rockefeller Inst. Med. Res., No. 9, New York, 1919.
——— and Schaub, I. G. *Am. J. Med. Science*, 1944, 208:385.
Channon, H. J., and McLeod, J. W. *J. Path. & Bacteriol.*, 1929, 32:283.
Clark, A. H., and Felton, L. D. *J.A.M.A.*, 1918, 71:1048.
Coburn, A. F. *U. S. N. Bull.*, 1944, 42:325.
Colebrook, D. C. *Spec. Rep. Ser. Med. Res. Counc.*, London, 1935, 205.
Colebrook, L. *Brit. M. J.*, 1930, 2:134.
——— and Prévot, A. R. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1925, 39:417.
——— and Hare, R. *J. Obstet. & Gynec.*, 1933, 40:609.
——— Elliot, S. D., Maxted, W. R., Morley, C. W., and Mortell, M. *Lancet*, 1942, 2:30.
Cowan, M. L. *Brit. J. Exper. Path.*, 1922, 3:187; 1923, 4:241; 1924, 5:226.
Cunningham, J. S. *J. Infect. Dis.*, 1929, 45:474.
Cruickshank, R. *J. Path. & Bacteriol.*, 1935, 41:367.
Dawson, M. H., Hobby, G. L., and Olmstead, M. *J. Infect. Dis.*, 1938, 62:138.
Dick, G. F., and Dick, G. H. *J.A.M.A.*, 1924, 82:265, 301, 1246; 1929, 93:1784.
Dingle, J. H., Abernathy, T. J., Badger, G. F., Cressy, N. L., Fellers, A. E., Gordon, I., Langmuir, A. D. Rammelkamp, C. H., Strauss, E., and Tatlock, H. *N. Eng. J. M.*, 1947, 236:157.
Dochez, A. R., and Sherman, L. *J.A.M.A.*, 1924, 82:542.
Duran-Reynals, F. *J. Exper. M.*, 1929, 50:327; 1933, 58:161.
Edwards, P. R. *J. Bacteriol.*, 1934, 27:527; *Ky. Agr. Exper. Sta. Bull.*, 1935, No. 356.
Elliott, S. D., and Dole, V. P. *J. Exper. M.*, 1947, 85:305.
Evans, A. C. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1931, 46:2539; 1932, 47:1723.
——— *J. Bacteriol.*, 1947, 53:489.
——— and Chinn, A. L. *J. Bacteriol.*, 1947, 54:495.
Fehleisen. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1882, 8:553.
Fildes, P., and Gladstone, G. P. *Brit. J. Exper. Path.*, 1939, 20:334.
Flosdorf, E. W., and Mudd, S. *J. Immunol.*, 1935, 29:389.
Friou, G. J., and Wenner, H. A. *J. Infect. Dis.*, 1947, 80:185.
Frobisher, M., Jr. *J. Exper. M.*, 1926, 44:777.
Fry, R. M. *Lancet*, 1938, 1:199.
——— Topley & Wilson, 1946, p. 587.
Gay, F. P., and Oram, F. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1931, 28:850.
——— *J. Immunol.*, 1933, 25:501.
Gordon, J. E. *J.A.M.A.*, 1932, 98:519.
Griffith, F. *J. Hyg.*, 1927, 26:363.
——— *J. Hyg.*, Cambridge, Eng., 1934, 34:542; 1935, 35:23.
Grumbach, A., and Schnetz, A. *Schweiz. Ztschr. f. allg. Path. u. Bakt.*, 1938, 1:59.
Hadley, P. B. *J. Infect. Dis.*, 1937, 60:129.
——— and Wetzel, V. *J. Bacteriol.*, 1943, 45:529.
Hamburger, M., and Green, M. J. *J. Infect. Dis.*, 1945, 77:68; 1946, 79:33.
———, Puck, T. T., Hamburger, V. G., and Johnson, M. A. *J. Infect. Dis.*, 1944, 75:79.
Hansen, P. L. *Skand. Vet. Tidskr.*, 1943, 33:257.
Hare, R. *J. Path. & Bacteriol.*, 1935, 41:499; *Lancet*, 1941, 1:85.
Harris, J. W., and Brown, J. H. *Johns Hopkins Hosp. Bull.*, 1929, 44:1.
Harris, T. N. *J. Bacteriol.*, 1942, 43:739.
Hart, D. *J.A.M.A.*, 1941, 117:1610.
Hart, P. D'A., and Anderson, A. B. *J. Path. & Bacteriol.*, 1933, 37:91.
Hiss, P. H. *J. Exper. M.*, 1905, 6:317.
Hottle, G. A., and Pappenheimer, A. M., Jr. *J. Exper. M.*, 1941, 74:545.
Irons, E. E., and Marine, D. *J.A.M.A.*, 1918, 70:687.
Kabat, E. A. *J. Immunol.*, 1943, 47:513.
Kendall, F. E., Heidelberger, M., and Dawson, M. H. *J. Biol. Chem.*, 1937, 118:61.
Koch, R. *Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfektionskrankheiten*, Berlin, 1878.
Koerber, W. L., and Bunney, W. E. *J. Immunol.*, 1941, 40:459.
Krejci, L. E., Stock, H. H., Sanigar, E. B., and Kraemer, E. O. *J. Biol. Chem.*, 1942, 142:785.
Kutschera, F. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I. Abt., 1908, 46:671.
Lamanna, C. *J. Bacteriol.*, 1944, 47:327.
Lancefield, R. C. *J. Exper. M.*, 1925, 42:377, 397; 1928, 47:91, 469, 481, 843, 857; 1933, 57:571.
——— *J. Exper. M.*, 1934, 59:441; 1928, 47:91, 469, 857; 1933, 57:571; 1938, 67:25.
——— *Harvey Lectures*, 1940-41, 36:251.
——— and Dole, V. P. *J. Exper. M.*, 1946, 84:449.
——— and Hare, R. *J. Exper. M.*, 1935, 61:335.
——— and Stewart, W. A. *J. Exper. M.*, 1944, 79:79.
——— and Todd, E. W. *J. Exper. M.*, 1928, 48:751.
——— and Todd, W. W. *J. Exper. M.*, 1928, 48:769.

LEMON, H. M. *New Eng. J. Med.*, 1947, 237:988.
LEVY, R. L., and ALEXANDER, H. L. *J.A.M.A.*, 1918, 70:1827.
LONGCOPE, W. T., O'BRIEN, D. P., MCGUIRE, J., HANSEN, O. C., and DENNY, E. R. *J. Clin. Invest.*, 1927, 5:7; 1927, 4:449.
LYONS, C., and WARD, H. K. *J. Exper. M.*, 1936, 61:531.
MACCALLUM, W. G., COLE, R., and DOCHEZ, A. R. *J.A.M.A.*, 1918, 70:1146.
MARBAIX. *La Cellule*, 1892.
MARMOREK, A. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1895, 9:593.
MCCLEAN, D. *J. Path. & Bacteriol.*, 1942, 54:284.
MCILWAIN, H. *Brit. J. Exper. Path.*, 1939, 20:330; 1940, 21:25.
MELENEY, F. L. *Ann. Surg.*, 1930, 91:287.
——— *Ann. Surg.*, 1931, 94:961; 1935, 101:997; 1939, 110:1067.
——— *Surg., Gynec. & Obstet.*, 1933, 56:847.
MEYER, K. *Physiol. Rev.*, 1947, 27:335.
MOORE, V. A. *Pathology of Infectious Diseases in Animals*, New York, 1916.
NAKAYAMA, Y. *J. Infect. Dis.*, 1920, 27:270.
NEILL, J. M., and MALLORY, T. B. *J. Exper. M.*, 1926, 44:241.
NEISSER, M., and WECHSBERG, F. *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, 1901, 36:299.
NIVEN, C. F., JR. *J. Bacteriol.*, 1943, 46:573.
OGSTON, A. *Brit. M. J.*, 1881, 1:369.
PAPPENHEIMER, A. M., JR., and HOTTLE, G. B. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1940, 44:645.
PASSET. *Fortschr. d. Med.*, 1885, 3:333.
PASTEUR, L. *Bull. Acad. Med.*, 1879, 8:260, 271.
PAULI, R. H., and COBURN, A. F. *J. Exper. M.*, 1937, 65:595.
PIKE, R. M. *J. Infect. Dis.*, 1946, 79:148.
PROOM, H. *J. Path. & Bacteriol.*, 1941, 53:39.
RANE, L., and SUBBAROW, Y. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1938, 38:837.
RANTZ, L. A., and RANDALL, E. *Am. J. Med.*, 1947, 2:551.
ROBERTSON, O. H. *Am. Rev. Tuberc.*, 1947, 55:109.
ROSENBACH, A. J. F. *Mikroorganismen bei den Wundinfektionskrankheiten des Menschen*, Wiesbaden, 1884.
ROTHBARD, S. *J. Exper. M.*, 1945, 82:93, 107, 119.
SAVCHENKO. *Russki Vratch.*, 1905, 4:797. (Quoted by Williams.)
SCHULTZ, W., and CHARLTON, W. *Ztschr. f. Kinderh.*, 1918, 17:328.
SCHÜTZ. *Arch. f. Tierheilk.*, 1888, 14:456.
SCHWENTKER, F. F., JANNEY, J. H., GORDON, J. E. *Am. J. Hyg.*, 1943, 38:27.
SEASTONE, C. V. *J. Exper. M.*, 1943, 77:21.
SEVAG, M. G., SMOLENS, J., and STERN, K. G. *J. Biol. Chem.*, 1941, 139:925.
SHATOCH, P. M. F., and MATTICK, A. T. R. *J. Hyg.*, 1943, 43:173.
SHERMAN, J. M. *Bacteriol. Rev.*, 1937, 1:3.
——— *J. Bacteriol.*, 1938, 35:81.
———, NIVEN, C. F., and SMILEY, K. L. *J. Bacteriol.*, 1943, 45:249.
SIMMONS, R. T., and KEOGH, E. V. *Aust. J. Exper. Biol. Med. Sci.*, 1940, 18:151.
SMYTHE, C. V., and HARRIS, T. N. *J. Immunol.*, 1940, 38:283.
SOLOWEY, M. *J. Exper. M.*, 1942, 76:109.
STABLEFORTH, A. W. Topley and Wilson, 1945, p. 582.
——— *J. Path. & Bacteriol.*, 1938, 46:21.
STOCK, A. H. *J. Biol. Chem.*, 1942, 142:777.
STONE, M. L. *J. Bacteriol.*, 1940, 39:559.
SUBBAROW, Y., and RANE, L. *J. Am. Chem. Soc.*, 1939, 61:1616.
TILLETT, W. S. *Bacteriol. Rev.*, 1938, 2:161.
——— and GARNER, R. L. *J. Exper. M.*, 1938, 58:485.
TODD, E. W. *J. Exper. M.*, 1932, 55:267; *Brit. J. Exper. Path.*, 1928, 9:91.
——— *J. Path. & Bacteriol.*, 1934, 39:299; *J. Exper. M.*, 1947, 85:571.
——— *Brit. J. Exper. Path.*, 1942, 23:136; 1938, 19:367.
——— and LAURENT, L. J. M., and HILL, N. G. *J. Path. & Bacteriol.*, 1933, 36:201.
TOPLEY, W. W. C., and WILSON, J. *Principles of Bacteriology and Immunity*, 3rd Ed., Williams and Wilkins, Baltimore, 1946.
VELDE, H. VAN DE. *La Cellule*, 1894, 19:401.
VELDEE, M. V. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1931, 46:693; 1932, 47:1043.
WARD, H. K., and LYONS, C. *J. Exper. M.*, 1936, 61:515, 531.
WELD, J. T. *J. Exper. M.*, 1934, 59:83; 1935, 61:473.
WELLS, W. F., WELLS, M. W., and WILDER, T. S. *Am. J. Hyg.*, 1942, 35:97.
WHITE, C., RUDD, G. V., and WARD, H. K. *Med. J. Aust.*, 1939, 1:96.
WILLIAMS, A. W. *Am. J. Pub. Health*, 1925, 15:129; 1929, 19:1303.
WOOLLEY, D. W., and HUTCHINGS, B. L. *J. Bacteriol.*, 1939, 38:285.
ZINSSER, H., and PARKER, J. T. *J. Exper. M.*, 1923, 37:275.
ZITTLE, C. A. *J. Immunol.*, 1942, 43:3.

CAPITULO XX

ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR ESTREPTOCOCOS

(Escarlatina, erisipela, faringitis epidémica por infección láctea, septicemia puerperal, endocarditis bacteriana subaguda, infecciones focales, fiebre reumática, artritis reumatoide, infecciones estreptocócicas microaerófilas y anaerobias)

ESCARLATINA

Sydenham, en 1675, dió la primera descripción detallada y exacta de la infección que llamamos ahora escarlatina. Creó el nombre *fibris scarlatinae* y diferenció la enfermedad del sarampión y la rubéola.

Crooke, en 1885, encontró los estreptococos en los cuerpos de pacientes muertos de escarlatina. Entre 1902 y 1907 se reunieron muchos datos por Moser y von Pirquet (1903), Meyer (1902), Rossiwall y Schick (1905), Savchenko (1905) y Gabrichewsky (1907) en favor de la etiología estreptocócica de la escarlatina, pero las dificultades encontradas en los intentos para reproducir la enfermedad en los animales de laboratorio impidieron la aceptación del hecho. Durante el período del descubrimiento de las enfermedades por virus, algunos investigadores llegaron a la conclusión de que la escarlatina era causada por un virus desconocido y que los estreptococos eran invasores secundarios. El descubrimiento de la toxina eritrogénica por Dick y Dick (1924-25) y Dochez y Sherman (1924) explicó a satisfacción de todos la mayor parte de los hechos obscuros de la enfermedad. La naturaleza de esta toxina ha sido tratada en el capítulo precedente. La potencia de la toxina escarlatinosa se determina por inyección intradérmica en la piel de seres humanos susceptibles. La unidad es la dosis cutánea (S. T. D.), definida así por los Dick: *La dosis cutánea es la cantidad mínima de toxina que administrada intracutáneamente a personas sensibles a la toxina provocará una reacción igual a la inducida en las mismas personas al mismo tiempo por la inyección de una dosis cutánea de la toxina tipo suministrada por el Instituto Nacional de Higiene de Estados Unidos.* La unidad de antitoxina ha sido definida arbitrariamente como sigue: *La menor cantidad de antitoxina que neutraliza cincuenta dosis cutáneas de toxina estreptocócica de escarlatina.* La *reacción de Dick* se practica por inyección intradérmica en la piel del antebrazo de una dosis cutánea de toxina contenida en 0,1 c.c. Una *reacción de Dick* positiva indica que el individuo puede sufrir la enfermedad. Por otra parte, la reacción de *Schultz-Charlton* positiva, por inyección de antitoxina en una área enrojecida de la piel, indica la *presencia de escarlatina.* Esta reacción ha sido descrita en la sección de productos biológicos en el capítulo precedente.

La toxina eritrogénica explica muchos de los aspectos clínicos de la enfermedad. La escarlatina ocurre rara vez en niños menores de 6 meses de edad o en adultos de más de 50 años. Si a un grupo de niños se le pone en contacto con un paciente de escarlatina, algunos no se infectan, algunos tienen escarlatina y otros sólo sufren una faringitis aguda, pero pueden transmitir la escarlatina a otros niños

susceptibles. Los niños pueden cambiar de una reacción de Dick positiva a un estado de negatividad sin manifestación ninguna de enfermedad clínica. Finalmente, existe el viejo problema de las fluctuaciones inexplicadas en la gravedad de la enfermedad, que varía no solamente de un año a otro, sino también según las regiones de un país aun en el mismo año. Los niños pequeños probablemente están protegidos por transmisión pasiva, a través de la placenta, de la antitoxina de la madre, aunque no se haya demostrado todavía la antitoxina en cantidades mensurables en la sangre de los niños normales. La gente de edad avanzada ha tenido oportunidad para adquirir la inmunidad activa por infecciones subclínicas. Para producir el síndrome clínico de la escarlatina, el estreptococo debe ser capaz de elaborar toxina eritrogénica y este poder es independiente de otros factores importantes para la virulencia del microorganismo; por tanto, los estreptococos que intervienen en una epidemia pueden producir infecciones muy leves o muy graves. La gravedad de las lesiones secundarias supuradas en oídos, mastoides, ganglios, etc., dependerá también en parte de la virulencia propia de la cepa.

Se ha comprobado que todavía queda por resolver cierto número de problemas concernientes a la naturaleza de la toxina eritrogénica. Hooker y Follensby (1934) han demostrado que hay dos toxinas eritrogénicas, A y B. Ambas son producidas por la cepa Dochez N. Y. 5, pero otras cepas pueden tener una u otra. Los estudios de Blake y Trask (1925) indican la existencia de más de una toxina. Aranow y Wood (1942) han aislado una cepa de *Staphylococcus aureus* productora de una toxina eritrogénica que podía ser neutralizada por antitoxina escarlatinosa. El síndrome en el paciente era idéntico a la escarlatina. Aunque todas las 33 cepas escarlatinosas de Evans pertenecían a un mismo tipo, otros investigadores han aislado cepas de tipos diversos.

Existe otra complicación más obscura de la escarlatina. Escherich y Schick, en 1912, observaron el desarrollo de *nefritis glomerular aguda* de 8 a 15 días después que el niño parecía haberse recuperado completamente de su escarlatina. Con frecuencia el comienzo fué repentino, con fiebre, náuseas, vómitos, edema y hematuria macroscópica. Schick, fundándose en la cronología, creyó que la enfermedad renal no era causada directamente por la infección, sino por alguna reacción de inmunidad. Este tipo de enfermedad, que ocurre en fase tardía de la infección, no se presenta exclusivamente en la escarlatina, sino también con muchos tipos diferentes de infección estreptocócica hemolítica; las recidivas con lesión renal con frecuencia pueden atribuirse a infecciones leves de las vías respiratorias superiores. Longcope (1927) estudió este problema durante años y está esencialmente de acuerdo con Schick, aunque considera la reacción de tipo *alérgico* más bien que de inmunidad.

En algunos casos, dos a seis semanas después de la fase aguda de la escarlatina, el paciente presenta repentina o gradualmente síntomas de *reumatismo agudo*. Esta complicación ocurre también con muchos otros tipos de infecciones estreptocócicas hemolíticas y será tratada después.

Tratamiento. La escarlatina se puede tratar satisfactoriamente con antitoxina escarlatinosa, suero humano de convaleciente, globulinas de extractos placentarios o globulinas aisladas de sangre de adulto. Tanto las sulfonamidas como la penicilina son muy eficaces.

Hoyne y Brown publicaron en 1947 sus resultados en 548 casos consecutivos de escarlatina tratados con: 1) penicilina sódica (116 casos); 2) suero de convaleciente de escarlatina (69 casos); 3) sulfonamidas (48 casos); 4) casos testigos (312 casos). Sólo hubo una muerte en todo el grupo de 548 pacientes. Los autores

concluyeron que la penicilina era tan buena como el suero de convaleciente y superior a las sulfonamidas. Hirsh y colaboradores (1947) compararon la eficacia de la antitoxina y la de la penicilina en casos alternos de escarlatina. Los tratados con penicilina, en número de 29, recibieron 25 000 unidades cada tres horas; los de antitoxina, en número de 25, recibieron de 9 000 a 27 000 unidades, suplementadas con sulfadiazina en los 8 pacientes que presentaron manifestaciones patógenas. Los autores concluyeron que la antitoxina daba por resultado una caída más rápida en la temperatura que la penicilina, pero que la penicilina era más eficaz para reducir tanto la frecuencia de las complicaciones piógenas como el número de portadores. Nosotros creemos que solamente los pacientes muy graves deben recibir ambos productos, penicilina y antitoxina.

Prevención. La escarlatina se ha intentado dominar por: 1) cuarentena; 2) pasteurización de la leche; 3) inmunización activa; 4) inmunización pasiva; 5) profilaxis con sulfonamidas.

Cuarentena. La cuarentena o período de aislamiento de la escarlatina varía de cuatro a seis semanas, según los casos. La enfermedad es transmitida por los estreptococos contenidos en materiales de la nariz y garganta y en el pus de las infecciones localizadas de los oídos y senos, no por la descamación cutánea. Parecería más lógico aislar al paciente no por un período arbitrario de tiempo fijado por la ley, sino hasta que los estreptococos fuesen eliminados de las lesiones locales y en particular de la nariz y la garganta.

Pasteurización de la leche. Davis y Rosenow (1912) y otros autores han registrado grandes brotes de escarlatina en Chicago y otros lugares, imputables a la leche. La infección puede provenir de la ubre de la vaca infectada con un estreptococo del grupo C-humano o de la leche infectada por portadores humanos en el proceso de ordeño y embotellado. En uno y otro caso está indicada la pasteurización como método profiláctico.

Inmunización activa. Los Dick han probado, y muchos otros autores han confirmado sus hallazgos, que la inyección de toxina estreptocócica escarlatinosa a seres humanos permite que la reacción de Dick se haga negativa. Sobre esta base y aceptando la reacción de Dick negativa como prueba de resistencia, se han establecido técnicas para la inmunización activa de niños y adultos contra la escarlatina. Esta toxina se inyecta subcutánea o intramuscularmente en la región deltoidea. La dosis se ha ido aumentando de año en año y difiere según las clínicas. Así, los Dick recomendaron una serie de cinco inyecciones con intervalos de una semana y con dosis cutáneas aproximadamente como sigue: 1) 500 dosis cutáneas S. T. D.; 2) 2 500 S. T. D.; 3) 20 000 S. T. D.; 4) 40 000 S. T. D.; 5) 80 000 a 100 000 S. T. D. En 1932, el Departamento de Higiene de la ciudad de Nueva York propuso una serie de cuatro inyecciones de 500, 2 000, 6 000 y 12 000 S. T. D., con intervalos semanales.

Se han observado reacciones locales y generales intensas, dolor de cabeza, vómitos y exantema escarlatiniforme después de las inyecciones de toxina. Creemos que las reacciones son más numerosas y molestas de lo que se admite generalmente. Una preparación menos tóxica, como el toxoide empleado por Veldee (1932) o la inmunización por vía bucal como han propuesto los Dick, reducirá tales reacciones. Muchos autores han investigado la utilidad de la toxina tratada con formol o toxoide; las opiniones actuales se pueden resumir como sigue: la formalina parece privar a la toxina de alguna de sus propiedades antigénicas, y la inmunización activa con el toxoide sólo logra alrededor del cincuenta por ciento de inversiones de la reacción de Dick. Todavía se ignora si este efecto se debe a la toxina alterada o a los restos de toxina sin modificar.

Los resultados de la inmunización profiláctica son difíciles de analizar, porque es evidente que en muchos casos la inmunización no logra producir una reacción de Dick negativa en personas susceptibles. En 1931, los Dick publicaron que ninguno de los 1 191 internos y enfermeras susceptibles inmunizados por su método contrajo la escarlatina, mientras que durante el mismo período hubo 37 casos de escarlatina en un grupo menor de internos y enfermeras susceptibles que no habían sido inmunizados antes de ir a trabajar a los pabellones de enfermedades contagiosas. Esta es una prueba substancial de que la inmunización profiláctica es útil para disminuir la frecuencia de la escarlatina. Si procede o no utilizarla sólo puede determinarse valorando el peligro de exposición, de una parte y la intensidad de la reacción, de otra.

Inmunización pasiva. Los niños pueden protegerse de la escarlatina por una sola inyección de 5 a 10 c.c. de antitoxina que contenga un total de 2 000 a 4 000 unidades. Tal protección dura de 7 a 10 días; después de este tiempo son de nuevo susceptibles a la enfermedad. La protección pasiva puede mantenerse por un tiempo algo más largo utilizando suero humano de convaleciente de escarlatina.

Profilaxis por las sulfonamidas. La sulfadiazina en dosis de un gramo diario ha evitado efectivamente el desarrollo de nuevos casos de escarlatina en campos militares, pero tal medida profiláctica debe ser vigilada cuidadosamente y en la práctica civil debe usarse con precaución para evitar el desarrollo de cepas de estreptococos productores de escarlatina resistentes a la quimioterapia.

ERISIPELA

En la Edad Media, tanto la erisipela como la intoxicación aguda por el cornezuelo de centeno fueron llamadas fuego de San Antonio. Fehleisen, en 1883, aisló un estreptococo hemolítico de las lesiones y reprodujo la enfermedad en el hombre por inoculación intradérmica de los microorganismos cultivados.

Los estreptococos penetran la piel a través de erosiones macroscópicas o microscópicas y se multiplican en los espacios linfáticos de la dermis. Los organismos rara vez afectan los tejidos subcutáneos; sin embargo, pueden penetrar en la corriente sanguínea y producir septicemia. Después de un período de incubación de tres a siete días aparece una zona roja, pequeña, brillante en el sitio de la inoculación y el paciente presenta molestias de manera repentina, frecuentemente con escalofrío seguido de náuseas, vómitos y postración. La piel roja brillante, inflamada y edematosa, suele cubrirse de vesículas pequeñas o grandes. Los bordes de las lesiones, con tendencia a extenderse, están claramente delimitados de la piel normal que los rodea y el progreso del área inflamatoria puede determinarse de hora en hora. El exudado inflamatorio en el tejido infectado se compone principalmente de células mononucleares del tipo de los plasmatocitos. La erisipela es distinta, tanto clínica como histopatológicamente, de la inflamación flemonosa, de la celulitis y de la linfagitis, aunque estas afecciones también pueden ser causadas por estreptococos hemolíticos y el diagnóstico diferencial a veces resulta difícil.

Los estreptococos que causan la erisipela pertenecen a diversos tipos específicos del grupo A. Las potentes toxinas eritrogénicas producidas por estas cepas constantes de erisipela pueden ser neutralizadas por la antitoxina de la escarlatina.

La enfermedad es contagiosa de persona a persona, pero no produce epidemias explosivas como la escarlatina. En contraste con la escarlatina, un ataque de erisipela puede predisponer al individuo a nuevos brotes.

Erisipela recidivante. Hay dos tipos clínicos de erisipela recidivante. El primero ocurre con breve intervalo, casi siempre pocas semanas después de la infección original. Se afecta la misma zona de piel donde se encuentran los estreptococos, pero los síntomas suelen ser más leves que los del primer ataque. El segundo tipo de recidiva ocurre meses y años después, con comienzo explosivo de fiebre y enrojecimiento de la zona afectada en el ataque original. Por lo general, los estreptococos no se pueden obtener de la piel inflamada. Se piensa que los ataques recidivantes son debidos a hipersensibilidad del paciente para las proteínas del estreptococo, como resultado de la primera infección. La hipersensibilidad cutánea en la zona de la enfermedad original es mayor que en otras regiones del cuerpo (Amoss, 1931). La inyección de filtrados del cultivo o estreptalérgenos puede originar un erisipela artificial a nivel de la región donde hubo la infección original.

Amoss (1931) ha demostrado que algunos pacientes que sufren erisipela recidivante de la cara pueden alojar estreptococos hemolíticos en la piel. Aquellos que presentan recidivas en las piernas, con frecuencia sufren infecciones micóticas alrededor de los dedos de los pies que favorecen el desarrollo local de los estreptococos; en consecuencia, la producción de antígenos en esos sitios causa reacciones alérgicas en la pierna. Los ataques repetidos de erisipela de la pierna ocasionan gradualmente la producción de *elefantiasis* por alteración del sistema linfático.

Tratamiento. Tanto la antitoxina de la erisipela como la antitoxina de la escarlatina han sido utilizadas con cierto éxito en el tratamiento de la erisipela. Las sulfonamidas y la penicilina son tan eficaces en el primer ataque y en las recidivas precoces, que ahora rara vez se emplea antitoxina. Los ataques recidivantes del tipo tardío no responden tan espectacularmente al tratamiento; los pacientes deben ser tratados por su sensibilidad a los estreptalérgenos y desensibilizados siguiendo el método descrito en la sección de productos biológicos del capítulo precedente. La desensibilización rara vez es permanente y debe repetirse de tiempo en tiempo. Se debe ejercer una cuidadosa higiene de los pies para prevenir los ataques de "pie de atleta" que abren el camino para las infecciones estreptocócicas.

Prevención. La profilaxis es la misma que para los otros tipos de infección estreptocócica.

AFECCIONES EPIDEMICAS DE LA GARGANTA POR INFECCION LACTEA

Afecciones epidémicas de la garganta imputables a la leche han sido observadas en Inglaterra desde 1875. El comienzo suele acompañarse de escalofrío repentino con dolores musculares, cefalea y náuseas. El cuadro es similar al de las formas más leves de influenza. La primera epidemia observada en Estados Unidos ocurrió en Boston en 1911 y fué estudiada por Winslow. Hubo 48 casos mortales. Desde hace tiempo se ha descrito cierto número de epidemias similares; la más intensa es la que tuvo lugar en Chicago en 1911, estudiada por Capps y Miller y por Davis y Rosenow. Hubo 10 000 casos, casi ninguno proveniente de la parte oeste de la ciudad. De 622 casos investigados, el 87 por ciento, o sea 537, consumían leche de una determinada lechería; el 79 por ciento de los casos mortales consumían la misma leche. Los individuos que tomaban leche de esta lechería se infectaron con una frecuencia catorce veces mayor que los que la recibían de otras. De 153 enfermeros y enfermeras de un determinado hospital que tomaban esta leche, el 80 por ciento sufrieron la enfermedad, mientras que de 721 de otros hospitales solamente el 4,8 por ciento cayeron enfermos. Hubo una epidemia coincidente de

faringitis entre los empleados de la lechería, donde se encontró que las vacas estaban afectadas de mastitis. Casi el 5 por ciento de las vacas de este establo tenían mastitis; se aislaron estreptococos de la leche de una vaca y de la garganta de una muchacha de la misma hacienda. Davis y Rosenow describieron los microorganismos aislados de estos casos. En todos ellos encontraron un estreptococo que producía colonias grandes en agar-sangre mayores que las de los estreptococos hemolíticos ordinarios. Producían una hemólisis moderada; el organismo resultó virulento para cobayos, ratones y conejos. Se desarrollaron cápsulas por pasos en animales. Estos autores creyeron que tal germen, *Streptococcus epidemicus*, constituía una especie distinta.

Williams y Gurley, en 1932, demostraron que algunas de las cepas de estreptococos hemolíticos aisladas de las ubres de las vacas, de la leche y de las lesiones de afecciones sépticas de la garganta, a juzgar por las pruebas de aglutinación, están antigénicamente relacionadas con los estreptococos de la escarlatina. Se encontró que otras cepas de estos orígenes estaban antigénicamente relacionadas con los estreptococos de la erisipela. Los resultados de estos estudios, junto con la investigación de las toxinas producidas por estas cepas, demostraron claramente que los estreptococos de la faringitis epidémica no constituyen una especie diferente.

FIEBRE REUMATICA
(Reumatismo poliarticular agudo)

Cheadle, en 1889, sugirió que la poliartritis, la corea de Sydenham y la enfermedad cardíaca formaban todas parte del mismo síndrome clínico.

Una de las principales manifestaciones de la fiebre reumática es la afección del corazón, y el síndrome resultante se conoce como cardiopatía reumática. Este tipo de cardiopatía es una de las tres causas principales de muerte entre las edades de 5 a 30 años en el Estado de Nueva York. Se ha estimado que la cardiopatía reumática causa de 30 000 a 60 000 muertes por año en Estados Unidos (Coburn, 1931; Swift y McEwen, 1938; Paul, 1943-47).

La fiebre reumática es rara en niños de menos de tres años y después de la mitad de la vida. Hay en esta enfermedad una clara tendencia familiar, análoga a la observada en el asma. Los estudios de Wilson (1940) sugirieron que la tendencia a desarrollar fiebre reumática es hereditaria como carácter recesivo. Este autor logró el número de casos que cabe esperar en una serie de familias reumáticas según: 1) el genotipo; 2) el número de familiares; 3) la edad de los niños. Estos resultados no contradicen la etiología infecciosa de la fiebre reumática si se supone una exposición uniforme y constante al agente infeccioso.

Durante muchos años se pensó que el agente etiológico era un virus desconocido. Se han admitido muchas otras posibilidades, incluyendo la infección por organismos de pleuroneumonía. Se sabe, sin embargo, que los estreptococos hemolíticos están asociados de manera constante con el comienzo y con las recidivas de la enfermedad (fig. 46). En realidad estamos en un período evolutivo de conocimientos, análogo al de la escarlatina, que precedió al descubrimiento de la toxina eritrogénica. Es evidente, sin embargo, que una exotoxina simple no explicará las manifestaciones complejas y proteiformes de la fiebre reumática.

Resulta indudable la asociación constante de diversos tipos de estreptococos hemolíticos de grupo A con la fiebre reumática. Coburn y sus colaboradores (1931) trasladaron cierto número de niños que sufrían fiebre reumática a Puerto Rico

durante un invierno. Los estreptococos hemolíticos desaparecieron de la nasofaringe y no se presentaron recurrencias mientras los niños permanecieron en la isla. Al regresar a Nueva York empezaron a presentarse recidivas en cuanto adquirieron de nuevo los estreptococos hemolíticos.

Coburn (1944) y Thomas (1939) han protegido a los niños de nuevos ataques de fiebre reumática por administración diaria de pequeñas dosis de sulfanilamida y sulfadiacina. En un campo militar donde hubo muchos casos de faringitis estreptocócicas, escarlatina y fiebre reumática se dió sulfadiacina a todo el personal. No hubo casos nuevos de faringitis o de escarlatina después de una semana, pero ocurrieron nuevos casos de fiebre reumática durante tres semanas; luego cesaron (Coburn, 1944). Este período de espera para la eliminación de la fiebre reumática sugirió que el estreptococo en ciertos individuos susceptibles, genéticamente predis-

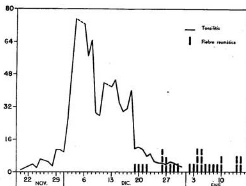


Fig. 46. Epidemiología de la fiebre reumática.

Durante una grave epidemia de infecciones por estreptococo hemolítico transmitidas por la leche en Dinamarca, en 1926, aparecieron treinta casos de fiebre reumática al final de la epidemia. La escala de la izquierda indica el número diario de casos de amigdalitis. (Según Madsen y Kalbak, *Acta path. et microbiol. Scandinav.*, 1940, 17:305.)

puestos, ocasionaba alguna respuesta inmunológica compleja que sería la causa definitiva de la enfermedad. Es evidente que ésta no es una respuesta alérgica simple como la que se observa en las erisipelas recidivantes.

Schultz y Rose, en 1947, refirieron la producción *in vitro* de conjugados de albúmina y plasma bacteriano que mataban a los ratones en dosis de 0,2 c.c. Dosis mínimas de este material produjeron síntomas en voluntarios humanos normales y reacciones más intensas en pacientes convalecientes de fiebre reumática. Se demostraron substancias protectoras en el suero de 9 de 16 pacientes que se habían recuperado recientemente de un ataque de fiebre reumática. Este nuevo material tóxico fué producido por cepas seleccionadas de estreptococos hemolíticos cuando "se mantenían en suspensión difusa en suero humano al cual se había añadido un 5 por ciento de seroalbúminas humanas, y se exponían a los rayos ultravioletas de intensidad

adecuada y por tiempo suficiente para duplicar la viscosidad específica reactiva". La naturaleza de esta toxina, su relación con el antígeno "X" de Rantz y Randall (1947) y la fiebre reumática están pendientes de investigación.

Tratamiento. La terapéutica profiláctica por sulfonamidas evita las recidivas de la fiebre reumática, pero ni las sulfonamidas ni la penicilina curan la enfermedad. De hecho, tal terapéutica puede aumentar los síntomas (Watson y colaboradores, 1944).

Profilaxis. El esfuerzo debe ser dirigido hacia la protección de los individuos susceptibles a las infecciones estreptocócicas. Una vez establecida la infección, ni las sulfonamidas ni la penicilina evitarán el desarrollo de la fiebre reumática.

SEPTICEMIA PUERPERAL

Antes que fuera aceptado el trabajo de Semmelweiss, morían decenas de millares de mujeres por infecciones puerperales estreptocócicas, transmitidas casi siempre por las manos o la nasofaringe del médico que las atendía.

La forma más peligrosa, rápidamente mortal, de fiebre puerperal es causada por diversos tipos de estreptococos hemolíticos de los grupos A y C-humano. Los estudios de Harris y Brown (1929) y Colebrook (1936) han demostrado que los estreptococos anaerobios normales de la vagina causan también con frecuencia la enfermedad. *Staphylococcus aureus*, el grupo *Clostridium* de anaerobios, incluyendo el bacilo del tétanos, el colibacilo y otros organismos, pueden causar la fiebre puerperal.

Tratamiento. Las infecciones por estreptococos hemolíticos responden fácilmente al tratamiento con sulfonamidas y penicilina. Las infecciones por estreptococos anaerobios son absolutamente resistentes a estos agentes, pero el restablecimiento con frecuencia se facilita empleando grandes dosis de penicilina.

Profilaxis. Deben hacerse todos los esfuerzos para proteger a la futura madre del contacto con individuos portadores de estreptococos hemolíticos. Son de uso habitual técnicas de asepsia escrupulosa en las exploraciones previas al parto; en las salas obstétricas deben evitarse en forma adecuada las infecciones por gotitas.

ENDOCARDITIS BACTERIANA SUBAGUDA

Aunque la endocarditis aguda puede ser causada por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Diplococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Brucella* y ocasionalmente por otros organismos, la mayor parte de los casos son de la variedad subaguda y están causados por cepas de estreptococos del grupo *viridans* o *enterococcus* (grupo D). En algunos casos se han aislado *Hemophilus parainfluenzae*, estreptococos microaerófilos y anaerobios, *Erysipelothrix erysipeloidis*, *Candida krusei*, e *Histoplasma capsulatum* de la sangre o de las válvulas del corazón en la necropsia.

La presencia de una lesión congénita del corazón o de una lesión valvular reumática activa o curada predispone al desarrollo de la endocarditis.

Tratamiento. La proporción de recuperación era menor del 1 por ciento en casos de endocarditis bacteriana subaguda antes de la introducción de la penicilina. La mayor parte de los estreptococos sólo presentan resistencia moderada a la penicilina en los experimentos en el tubo de ensayo, pero las dificultades encontradas

para obtener una concentración adecuada de antibiótico en la profundidad de las lesiones, hacen necesario el uso de grandes dosis de penicilina del tipo de un millón de unidades por día y durante seis semanas. Las recaídas son frecuentes, pero por fortuna los organismos sólo adquieren lentamente resistencia a la penicilina y series repetidas de tratamientos, hasta seis u ocho, han logrado curaciones. Con diagnóstico precoz y tratamiento adecuado cabe esperar una proporción de recuperaciones del 75 por ciento (Bloomfield y colaboradores, 1945; Dawson y Hunter, 1946).

Profilaxis. Los pacientes con lesiones congénitas del corazón o carditis reumáticas antiguas deben recibir el tratamiento profiláctico de sulfonamidas antes de la extracción de dientes o de sufrir operaciones de las vías respiratorias superiores.

INFECCIONES FOCALES

Las infecciones focales en diversas partes del cuerpo con diversos organismos, se han considerado causa de muchas infecciones clínicas obscuras. Los focos demostrables en las amígdalas, adenoides y senos suelen albergar estreptococos hemolíticos. Los focos apicales de los dientes, por regla general, proporcionan estreptococos alfa-hemolíticos o microaerófilos.

En ocasiones, los pacientes con artritis aguda o subaguda y otras infecciones febriles obscuras, se recuperan de manera espectacular después de la extirpación de las amígdalas o la extracción de un diente infectado. Tales éxitos ocasionales dieron lugar a la moda de las extracciones de dientes y amígdalas al por mayor en casi todos los tipos concebibles de molestias. Estamos de acuerdo con Cecil y Angevine (1938) y Reimann y Havens (1940) en que los focos evidentes de infección deben ser extirpados, pero que la extracción sistemática de dientes y amígdalas para prevenir o curar enfermedades generales no está justificada.

ARTRITIS REUMATOIDE

La artritis reumatoide es una enfermedad crónica con manifestaciones generales que afecta especialmente los revestimientos sinoviales de las articulaciones.

La mayor parte de los investigadores creen que la artritis reumatoide es una enfermedad infecciosa (Rawls y Chapman, 1935), pero algunos insisten en que es de origen metabólico.

Los estreptococos hemolíticos se encuentran con frecuencia en la nasofaringe de los pacientes de artritis reumatoide, pero la asociación no es tan obligada como en la fiebre reumática. Cecil (1931) y sus colaboradores demostraron en la sangre la presencia de aglutininas para estreptococos hemolíticos previamente aislados de los pacientes de este tipo de artritis. Cecil y DeGara (1946) observaron, también que los sueros de pacientes con artritis aglutinaban los estreptococos aislados de casos de escarlatina y erisipela. Algunos de los sueros contenían precipitinas para las fracciones proteínicas de los estreptococos hemolíticos. Las reacciones cutáneas con fracciones de estreptococos no han sido concluyentes. Allan Wallis (1946-47) ha aducido pruebas de que tales reacciones con estreptococos son refuerzos no específicos de los anticuerpos presentes en personas normales y probablemente no tiene significación etiológica. No hay tratamiento específico ni se conocen métodos preventivos. Una enfermedad tan frecuente y que causa tal grado de incapacidad, merece investigación intensa.

INFECCIONES POR ESTREPTOCOCOS MICROAEROFILOS Y ANAEROBIOS

Los estreptococos aerobios asociados con un tipo de gangrena excavante crónica de los tejidos subcutáneos han sido estudiados por Meleney (1931-33-35-39). A veces van acompañados de estafilococos y colibacilos, pero con frecuencia se presentan solos. Son anaerobios en el aislamiento primario, pero se adaptan por sí mismos a condiciones aerobias después de algunos pasos.

Los estafilococos estrictamente anaerobios han sido estudiados por Harris y Brown (1929), Colebrook (1930), Colebrook y Hare (1933) y Stone (1940). Estos organismos parecen ser habitantes normales de la vagina; con frecuencia causan fiebre puerperal. Se han aislado estreptococos anaerobios de empiemas. También son una parte de la simbiosis fusoespirilar que causa la forma más común de gangrena pulmonar (Smith, 1927; Proske y Sayers, 1934). Los estreptococos microaeróf ilos responden lentamente al tratamiento con peróxido de cinc, solo o acompañado de sulfonamidas (Meleney, 1939). Los estreptococos anaerobios son resistentes a las sulfonamidas y a la penicilina, pero las grandes dosis tienen cierto valor. Estos dos grupos de estreptococos requieren mayor estudio.

BIBLIOGRAFIA

ABRAHAM, E. P., CHAIN, E., FLETCHER, C. M., GARDNER, A. D., HEATLEY, N. G., JENNINGS, M. A., and FLOREY, H. W. *Lancet*, 1941, 2:177.
AMOSS, H. L. *Ann. Int. M.*, 1931, 5:500.
ARANOW, H., and WOOD, W. B. *J.A.M.A.*, 1942, 119:1491.
BAYNE-JONES, S. *J. Infect. Dis.*, 1922, 31:474.
BIRKHAUG, K. E. *Johns Hopkins Hosp. Bull.*, 1925, 36-134; 37:307.
——— *J.A.M.A.*, 1926, 86:1411; 1927, 88:885.
——— *J. Infect. Dis.*, 1927, 40:549; 1928, 43:35, 280.
——— *Arch. Pathol.*, 1928, 6:441.
BLAKE, F. G., TRASK, J. D., and LYNCH, J. F. *J.A.M.A.*, 1924, 82:712.
——— *N. York State J. Med.*, 1925, 25:1093.
BLOOMFIELD, A. L., ARMSTRONG, C. D., and KIRBY, W. M. *J. Clin. Invest.*, 1945, 24:251.
CAPPS and MILLER. *J.A.M.A.*, 1912, 58:1848.
CECIL, R. L., and ANGEVINE, D. M. *Ann. Int. M.*, 1938, 12:577.
——— and DEGARA, P. F. *Am. J. M. Sc.*, 1946, 211:472.
——— NICHOLLIS, E. E., and STAINSBY, W. J. *Am. J. Med. Sci.*, 1931, 181:12.
CHEADLE. *The Various Manifestations of the Rheumatic State*, Smith, Elder and Co., London, 1889.
COBURN, A. F. *Canad. M. Ass. J.*, 1944, 51:366.
——— *J.A.M.A.*, 1944, 126:88.
——— *The Factor of Infection in the Rheumatic State*, Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1931.
——— and MOORE, L. Y. *M. Clin. North America*, 1940, 24:633.
——— and PAULI, R. H. *J. Exper. M.*, 1932, 56:609, 633, 651.
COLEBROOK, L. *Brit. M. J.*, 1930, 2:134.
——— and KENNY, M. *Lancet*, 1936, 1:1279.
——— and HARE, R. *J. Obstet. & Gynec.*, 1933, 40:609.
——— ELLIOT, S. C., MAXTED, W. R., MORLEY, C. W., and MORTELL, M. *Lancet*, 1942, 2:30.
CROOKE, G. *Fortschr. d. Med.*, 1885, 3:651.
DAVIS and ROSENOW. *J.A.M.A.*, 1912, 58:773.
DAWSON, M. H., and HUNTER, T. H. *Ann. Int. M.*, 1946, 24:170.
DICK, G. F. *Internat. Clinics*, 1930, 1:150.
——— and DICK, G. H. *J.A.M.A.*, 1923, 81:1166; 1924, 82:265, 301, 544, 1246; 1924, 83:84; 1925, 84:803, 1477; 1929, 93:1784; 1932, 98:1436.
——— *Am. J. Dis. Child.*, 1929, 38:905.
DOCHEZ, A. R. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1924, 24:124.
——— and SHERMAN. *J.A.M.A.*, 1924, 82:541.
FEHLEISEN. *Die Aetiologie des Erysipels*, Berlin, 1883.
GABRICHEWSKY. *Centralbl. f. Bakteriol.*, Orig., 1907, 41.
——— *Berl. klin. Wchnschr.*, 1907, 44:556.
HAMBURGUER, M., JR., y col. *J.A.M.A.*, 1944, 124:564.
HARRIS, J. W., and BROWN, J. H. *Johns Hopkins Hosp. Bull.*, 1929, 44:1.
HIRSH, H. L., ROTMAN-KAVKA, G., DOWLING, H. F., and SWEET, L. K. *J.A.M.A.*, 1947, 133:657.

HOLMAN, W. L. *Arch. Pathol.*, 1928, 5:68.
HOYNE, A. L., and BROWN, R. H. *J.A.M.A.*, 1947, 133:661.
HOOKER, S. B., and FOLLENSBY, E. M. *J. Immunol.*, 1934, 27:177.
KUTTNER, A. G., and REYERSBACH, G. *J. Clin. Invest.*, 1943, 22:77.
LONGCOPE, W. T., O'BRIEN, D. P., MCGUIRE, J., HANSEN, O. C., and DENNY, E. R. *J. Clin. Invest.*, 1927, 5:7; 4:449.
MASSELL, B. F., and JONES, T. D. *New Eng. J. M.*, 1938, 218:876.
MELENEY, F. L. *Ann. Surg.*, 1931, 94:961; 1935, 101:997; 1939, 110:1067.
——— *Surg. Gynec. & Obst.*, 1933, 56:847.
MEYER. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1902, 28:751.
MOSER, and VON PIRQUET. *Centralbl. f. Bakteriol.*, Orig., 1903, 34:560, 714.
MOSER, P. *Jahrb. f. Kinderh.*, 1903, 57:1.
——— *Berl. klin. Wchnschr.*, 1903, 40:14.
PAUL, J. R. *The Epidemiology of Rheumatic Fever*, Metropolitan Life Insurance Co. Press, New York, 1943.
——— *Am. J. Med.*, 1947, 2:66.
PROSKE, H. O., and SAYERS, R. R. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1934, 49:839.
RANTZ, L. A., and RANDALL, E. *Am. J. M.*, 1947, 2:551.
RAWLS, W. B., and CHAPMAN, G. H. *J. Lab. Clin. M.*, 1935, 21:49.
REIMANN, H. A., and HAVENS, W. P. *J.A.M.A.*, 1940, 114:1.
ROSSIWALL and SCHICK. *Wien. klin. Wchnschr.*, 1905, 18:3.
SAVCHENKO. *Russki Vrake*, 1905, 797.
SCHULTZ, W., and CHARLTON, W. *Ztschr. f. Kinderh.*, 1918, 17:328.
SCHULTZ, M. P., and ROSE, E. J. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1947, 62:1009.
SMITH, D. T. *Am. Rev. Tuberc.*, 1927, 16:584.
STONE, M. L. *J. Bacteriol.*, 1940, 39:559.
SWIFT, H. F., and MCEWEN, C. *Rheumatic Fever.* Oxford Loose-Leaf Medicine, Oxford Univer. Press, New York, 1938, 5:11.
——— ANDREWS, C. H., and DERICK, C. L. *J. Exper. M.*, 1926, 44:35.
——— DERICK, C. L., and HITCHCOCK, C. H. *J.A.M.A.*, 1928, 90:906.
SWIFT, H. F., and KINSELLA, R. A. *Arch. Int. Med.*, 1917, 19:381.
THOMAS, C. B., and FRANCE, R. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1939, 64:67.
VELDEE, M. V. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1931, 46:693.
——— *U. S. Pub. Health Rep.*, 1932, 47:1043.
WADSWORTH, A. B., KIRKBRIDE, M. B., and HENDRY, J. *Am. J. Hyg.*, 1928, 9:371; 1929, 9:371.
WALLIS, A. D. *Am. J. Med. Sci.*, 1946, 212:713, 716, 718; *ibid.*, 1947, 213:87, 94.
WATSON, R. F., ROTHBARD, S., and SWIFT, H. F. *J.A.M.A.*, 1944, 126:274.
WESSELHOEFT, C., and WEINSTEIN, L. *New Eng. J. M.*, 1945, 232:500.
WILLIAMS, A. W. *Am. J. Pub. Health*, 1929, 19:1303.
——— *J.A.M.A.*, 1929, 93:1544.
——— *Streptococci in Relation to Man in Health and Disease*, Baltimore, 1932, p. 136.
——— and GURLEY, C. R. *J. Bacteriol.*, 1932, 23:241.
WILSON, M. G. *Rheumatic Fever*, The Commonwealth Fund., New York, 1940.
——— and SCHWEITZER, M. D. *J. Clin. Invest.*, 1937, 16:555.
——— SCHWEITZER, M. D., and LUBSCHEZ, R. *J. Pediat.*, 1943, 22:468, 581.
WINSLOW, C.-E. A. *J. Infect. Dis.*, 1912, 10:73.
ZINSSER, H. *Bull. N. Y. Acad. Med.*, 1928, 4:351.

CAPITULO XXI

EL NEUMOCOCO Y LA NEUMONIA

Familia: *Lactobacteriaceae* Orla-Jensen. Grupo: *Streptococceae* Trevisan. Género: *Diplococcus* Weichselbaum. Especie: *Diplococcus pneumoniae* Weichselbaum

En Estados Unidos el porcentaje de muertes por neumonías de todas clases durante el año de 1940 fué de 70,3 por cien mil habitantes. Ninguna otra enfermedad infecciosa (excepto la tuberculosis, con una proporción de 45,9) se acerca a la neumonía en importancia como causa de muerte. Los neumococos causan alrededor del 90 por ciento de los casos de neumonía lobar y por lo menos el 75 por ciento de las clasificadas como bronconeumonía.

FRECUENCIA DE LOS AGENTES ETIOLÓGICOS EN LA NEUMONÍA

ORGANISMO CAUSAL	TIPOS CLÍNICOS DE NEUMONÍA			
	Neumonía lobar 15 420 casos	Bronconeumonía 6 092 casos	No especificado 4 290 casos	Total de neumonías 25 802 casos
Neumococo	82,48%	65,79%	77,48%	77,71%
Estreptococo hemolítico	2,00%	3,33%	3,99%	2,65%
Otros estreptococos	1,30%	2,99%	1,33%	1,70%
Estafilococo	0,82%	2,00%	1,38%	1,19%
Bacilo de Friedländer	0,15%	0,13%	0,28%	0,17%
Bacilo de la influenza	0,06%	0,25%	0,11%	0,15%
Bacilo tuberculoso	......	0,08%	......	0,02%
Hongos	......	0,02%	......	......
Virus	......	......	0,07%	0,01%
No se registraron organismos significativos	13,19%	25,41%	15,38%	16,44%
Total	100,0 %	100,0 %	100,0 %	100,0 %

(Según Rumreich y colaboradores, *U. S. Path. Health Repts.*, 1943, 58:121.)

Los casos mortales varían algo de un año a otro y según el tipo específico de neumococo en cuestión, pero la experiencia general indica que antes de la introducción de la terapéutica específica morían el 30 por ciento de los pacientes afectados. Con la terapéutica por las sulfonamidas, en las mejores condiciones, la proporción de casos mortales se redujo alrededor del 10 por ciento, pero todo señala que puede bajar a un nivel del 5 por ciento o menos con la penicilina (Tillett y colab., 1945; Cecil, 1947).

Los diplococos lanceolados, reconocidos ahora como neumococos, fueron encontrados en la saliva humana independientemente por Sternberg y por Pasteur en 1881. Ambos investigadores produjeron septicemias en conejos con estos organismos, pero no asociaron los diplococos con la neumonía, probablemente porque no

habían advertido que los individuos sanos podían ser portadores de cocos virulentos. El descubrimiento de que los diplococos causaban la neumonía lobar fué hecho independiente y simultáneamente por A. Fränkel y Weichselbaum, quienes publicaron los resultados de sus estudios en 1886. Para un estudio ilustrado de la historia de este campo de la bacteriología y para una explicación detallada de las características y actividades del organismo, remitimos al lector a la excelente monografía publicada en 1938 por White, en colaboración con Robinson y Barnes, titulada *The Biology of the Pneumococcus.*

Pueden aislarse neumococos específicos del 25 al 50 por ciento de individuos sanos normales que no han tenido contacto reciente con enfermos de neumonía. Straken, Hill y Lovell (1939) demostraron por cultivos frecuentes y repetidos de la nasofaringe que casi todos los individuos alojan, aunque sea solamente por corto tiempo, la mayor parte de los tipos predominantes en el área en que viven y trabajaban. Felton, en el año 1940, encontró que los sueros de aproximadamente un tercio de 1 100 individuos que eran normales mantenían anticuerpos capaces de proteger a los ratones contra una o más dosis mortales de neumococos de tipos I y II.

Aunque los animales domésticos pueden albergar neumococos y estar sujetos a epidemias de neumonía específica, no hay pruebas de que el hombre adquiera la neumonía de ellos; los datos que conocemos sugieren más bien que los animales se llegan a infectar por su asociación con el hombre.

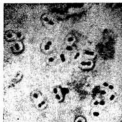


FIG. 47. NEUMOCOCOS DESARROLLADOS EN SUERO DE LÖFFLER.

Cápsula teñida por el método de carbonato de potasio-violeta de genciana.

Morfología y tinción. Los neumococos son cocos lanceolados bastante grandes que usualmente se presentan en pares y están rodeados de *cápsulas* definidas. En las parejas típicas de neumococos las puntas de los cocos aparecen señalando en direcciones opuestas. Esta disposición característica es totalmente diferente de la de otros diplococos en los cuales los lados aplanados de los cocos son vecinos. En los frotis, los cocos pueden encontrarse también aislados, en cadenas cortas o largas. En el último caso la cápsula parece encerrar la cadena con muescas opuestas en los puntos de división o sin ellas (fig. 47).

Las principales variaciones de la morfología típica consisten en la presentación de cocos de un tipo más claramente esférico o en un alargamiento que los aproxima a la forma bacilar. Los neumococos de tipo III son de forma esférica característica, tanto en los exudados orgánicos como en los cultivos. Otros tipos de neumococos pueden adoptar la forma esférica de tiempo en tiempo, bajo condiciones diferentes de cultivo. En cultivos en caldo, una cadena de neumococos puede semejar una cadena de estreptococos a causa del aplanamiento lateral de organismos adyacentes. En cultivos de 24 a 48 horas se encuentran regularmente formas de evolución, hinchadas e irregulares.

El neumococo es *no esporulado, inmóvil* y no posee flagelos. El organismo se tiñe fácilmente con los colorantes de anilina y es *grampositivo* cuando se examinan cultivos frescos en desarrollo activo; en los cultivos viejos se pueden encontrar numerosas formas gramnegativas. Las cápsulas se pueden teñir, en los frotis fijados, por el colorante capsular de Huntoon o por el método del sulfato de cobre de Hiss.

Los neumococos son *solubles en bilis.* La rápida autólisis en la bilis o en des oxicolato al 10 por ciento, en cinco o diez minutos, es la prueba de mayor valor para diferenciar los neumococos de otras formas cocáceas. Si hay glucosa en el caldo en que los neumococos se desarrollan, el aumento de la acidez causa un precipitado después de la adición de la solución de desoxicolato, a menos que se haya ajustado el cultivo a pH 7,4. Si se utiliza una suspensión demasiado espesa para la prueba de la solubilidad en bilis, el material tratado puede aparecer casi tan turbio como el testigo original, debido a los numerosos fragmentos disgregados de los neumococos. En caso de duda, el examen macroscópico debe ser complementado por la tinción. Tres asas de suspensión del tubo testigo deben pasarse a un portaobjetos y tres de la suspensión que se ensaya a puntos diferentes del mismo porta. Después de haberla secado al aire y teñido por el método de Gram, se examina cada preparación a fin de comprobar la presencia de cocos grampositivos.

Caracteres de cultivo. Los neumococos por ser parásitos más estrictos que muchas otras bacterias, resultan más difíciles de cultivar. Los medios de caldo de carne conteniendo suero o sangre desfibrinada total son esenciales para el aislamiento desde los animales infectados. Para el mejor desarrollo, los medios usados para el cultivo de este organismo deben tener un pH de 7,6 a 7,8. Aunque los organismos se desarrollarán en medio ligeramente ácido, la acidez intensa matará rápidamente al cultivo.

Rane y Subbarow (1940) han demostrado que los neumococos requieren la presencia de ácido glutámico, glicina, asparagina, leucina, arginina, alanina, lisina, metionina, cistina, histidina, triptófano, norleucina, fenilalanina y oxiprolina y las vitaminas ácido nicotínico, ácido pantoténico y colina. También necesitan biotina (Bohonos y Subbarow, 1943).

Los neumococos son *aerobios,* pero también *anaerobios facultativos.* El desarrollo se observa rara vez a temperaturas por debajo de 25° C. o por encima de 41° C. La temperatura óptima es alrededor de 37,5° C. La glucosa y la glicerina aumentan la velocidad de multiplicación, pero la creciente producción de ácido como resultado del desarrollo forzado pronto matá a los cultivos, a menos que el ácido se neutralice por la adición al medio de uno por ciento de carbonato cálcico pulverizado.

En las *placas de agar-sangre con caldo de carne* los neumococos, después de una incubación de 24 a 48 horas, desarrollan colonias pequeñas, redondas, algo aplanadas y transparentes. Se parecen a las colonias de estreptococos, pero son más húmedas y aplanadas. Al microscopio las colonias son finamente granulares, con centros obscuros y áreas periféricas de color claro, ligeramente corrugadas. A mayores aumentos no presentan circunvoluciones entrelazadas como las colonias de estreptococos en condiciones similares.

En *caldo* nutritivo adecuado el desarrollo es rápido; en 24 horas hay un ligero enturbiamiento uniforme del líquido. Con frecuencia el desarrollo aumenta por la adición de 2 a 4 por ciento de peptona en el caldo. La adición de una parte de suero o líquido de ascitis a tres partes de caldo mejora grandemente el medio; así tiene lugar dentro de las 18 a 24 horas un desarrollo profuso. Con frecuencia se observan cadenas cortas, a veces largas, en los frotis hechos de los cultivos en caldo. Los factores combinados de la aglutinación ácida y de la autólisis da lugar a un aclaramiento del caldo de cultivo en 36 a 48 horas y a la formación de un pequeño sedimento en el fondo del tubo.

En *placas de sangre vertida,* después de una incubación de 48 horas, los neumococos producen en la profundidad pequeñas colonias compactas redondas rodeadas

por una zona de color verdoso que tiene aspecto idéntico al que forman las colonias de estreptococos alfahemolíticos.

En *suero sanguíneo coagulado* de Löffler los neumococos producen colonias discretas húmedas, acuosas, que pueden desaparecer después de varios días como resultado de la desecación; esto contrasta con las colonias de estreptococos que son más opacas y más blancas y permanecen inalteradas por mayor tiempo. Sobre este medio se desarrollan bien las cápsulas durante las primeras 24 horas de crecimiento.

La adición de uno por ciento de glucosa y cinco por ciento de sangre de conejo desfibrinada al caldo de carne, con el pH ajustado a 7,8, permite un desarrollo muy rápido de los organismos. La mezcla, conocida como *medio de Avery* o *ratón artificial de Avery*, facilita el primer aislamiento y la identificación de los neumococos ya que se puede establecer la clasificación directa por el método de *Quellung* en cultivos de 12 a 18 horas.

La inoculación intraperitoneal de un ratón blanco no sólo constituye el método más rápido y de mayor valor para obtener cultivos puros de neumococos a partir de los materiales contaminados, sino que también es medio seguro para determinar el poder patógeno de la cepa. Los detalles para inocular ratones se indican en la sección de técnicas.

Fermentan la mayor parte de los azúcares simples con producción de *ácido sin gas*. Se producen grandes cantidades de ácido láctico y pequeñas cantidades de alcohol etílico y ácidos volátiles. El único carbohidrato de valor diferencial es la inulina. Casi todas las cepas de neumococos *fermentan la inulina* de modo que una prueba positiva es confirmatoria, pero una prueba negativa no excluye la posibilidad de que el organismo sea un neumococo. Las pruebas falsas de inulina con frecuencia dependen del fracaso de los neumococos para desarrollarse en el medio con suero. De hecho se requieren siembras algo gruesas para obtener subcultivos de neumococos en prácticamente todos los tipos de medios. Cole recomienda sembrar de 0,1 c.c. de caldo de cultivo por cada 5 c.c. del nuevo caldo. El *medio de inulina-suero de Hiss* se usa para diferenciar los neumococos de los estreptococos. El líquido azul transparente se coagula y decolora por el ácido producido al fermentar la inulina por los neumococos.

Resistencia. Los neumococos sobreviven en el esputo seco por varios meses si se protegen de la luz directa del sol. Se han aislado los organismos por inoculación al ratón de polvo recogido del suelo de los pabellones que alojan pacientes con neumonía, pero no de otras salas, vestíbulos de entrada, laboratorios o calles. Los organismos mueren rápidamente en los cultivos cuando se acumula ácido. Se pueden conservar en vida durante unos días si se guardan en la obscuridad a baja temperatura o por algunas semanas en caldo con carbonato cálcico, mantenido a la temperatura de la nevera. Neufeld pudo conservar los organismos durante meses guardando los bazos de los ratones muertos de septicemia neumocócica en placas de Petri conservadas en desecadores en la obscuridad a temperaturas variables entre 5 y 10° C. Se recuperaron organismos virulentos por inoculación intraperitoneal de ratones con porciones de los bazos conservados y cultivo de la sangre del corazón del ratón después de muerto.

Los neumococos se pueden conservar vivos y virulentos durante meses o años por el método de congelación y desecado creado por Flosdorf y Mudd (1935).

Los neumococos mueren rápidamente por calentamiento a 52° C. durante 10 minutos, en una hora por la luz directa del sol, y en hora y media después de la exposición a la luz solar difusa. Los neumococos se destruyen con mucho mayor rapidez por el fenol, bicloruro de mercurio, permanganato potásico y otros antisépticos, que

los estafilococos y estreptococos. Los neumococos son particularmente susceptibles a los jabones, bilis, oleato sódico, colorantes y ciertos derivados de la quinina.

Todas las sulfonamidas de uso común, excepto la sulfanilamida original, inhiben rápidamente el desarrollo de los neumococos *in vitro*. Por desgracia, los organismos adquieren rápidamente resistencia a la droga cuando se emplean dosis irregulares o inadecuadas. La resistencia a un sulfonamídico suele ir acompañada de resistencia a otras sulfonamidas (Kirby y Rantz, 1943). El desarrollo de razas sulfonamidorresistentes y su propagación podían haber hecho desaparecer con el tiempo la utilidad de las sulfonamidas como medio terapéutico importante contra la neumonía, si la penicilina no hubiera sido descubierta. Afortunadamente las razas de neumococos sulfonamidorresistentes encontradas en la neumonía son tan susceptibles a la penicilina como las cepas no resistentes (Tillett y colab., 1945).

Los neumococos son extraordinariamente sensibles a la penicilina que no solamente inhibe su desarrollo, sino que realmente mata los neumococos. Aunque se han observado cepas de neumococos penicilinorresistentes (McKee y Houck, 1943), hasta el momento se encuentran rara vez.

La *estreptomicina* sólo inhibe ligeramente el desarrollo de los neumococos en el tubo de ensayo; la concentración eficaz es de 8 a 60 μg por c.c. de cultivo líquido.

Variabilidad. La forma capsulada de neumococos ha sido llamada lisa (S) y la no capsulada rugosa (R); estos términos se encuentran de una manera constante en la literatura antigua. Shinn (1937) descubrió una variante en cultivos viejos de neumococos, la cual, sobre agar, desarrollaba una colonia rugosa y presentaba un crecimiento filamentoso miceliano típico de las formas R de otras especies. Para mantener la consecuencia en la terminología, Dubos (1946) y Dawson y colaboradores (1938) han propuesto que la fase capsulada se denomine mucoide (M), la forma lisa no capsulada, llamada previamente R, se llame lisa (S) y la verdadera forma rugosa (R). Hemos seguido esta sugestión en la exposición que sigue.

Stryker en 1916 y Griffith en 1923 produjeron cepas no virulentas de neumococos por desarrollo de los organismos en antisueros específicos de tipo. La pérdida de la virulencia iba pareja con el cambio en el tipo de la colonia de mucoide (M) a lisa (S). Las variantes intermedias entre M y S han sido estudiadas por Klumpen (1932), Blake y Trask (1933) y otros. Probablemente tiene lugar una variación similar en los pacientes, pues se han podido cultivar formas S no virulentas en abundancia, de pulmones y exudados de personas restablecidas de neumonía. Shibley y Rogers (1932), Wadsworth y Sickles (1927) y Paul (1927) han presentado pruebas de que este tipo de variación ocurre *in vivo* en caballos y perros inmunizados.

Esta forma S, antiguamente llamada R, ha perdido su cápsula, su virulencia y su especificidad de tipo, pero conserva un antígeno proteínico común al grupo.

El desarrollo en un suero anti-S o la inoculación intraperitoneal de dosis masivas en ratones puede revertir el tipo S no virulento al tipo específico virulento de fase M (Paul, 1927; Dawson y Sia, 1931).

La virulencia puede aumentarse por pasos a través de animales o por la rápida transferencia en medios de cultivo adecuados, independientemente de la forma de la colonia. Chesney encontró en 1916 que los organismos separados de un cultivo de seis a ocho horas eran mucho más virulentos que los de un cultivo de 24 horas. Felton, en 1924, perfeccionó un artificio mecánico para transferir los cultivos cada cuatro horas y por este método pudo aumentar diez millones de veces la virulencia de un neumococo prácticamente avirulento.

Los neumococos pueden desarrollar otras variantes además de las típicas $M \rightleftarrows S \rightleftarrows R$. Una de las más interesantes es la colonia fantasma llamada la forma

P-C. * Los neumococos virulentos que se desarrollan en los pulmones bajo condiciones de: 1) CO_2 aumentado; 2) tensión de O_2 disminuída; 3) medio más fuertemente reductor; 4) menos alcalino, llegan a adaptarse aparentemente a estas alteraciones del medio. Por aislamiento y cultivo en medios ordinarios y en condiciones usuales, los organismos crecen, pero sobreviene una tan rápida autólisis que se desarrollan las típicas colonias fantasmas. Las colonias P-C se pueden evitar por incubación del cultivo en una atmósfera de 10 por ciento de CO_2 (Eaton, 1934-35).

Transformación de tipos específicos. La primera demostración de que un tipo de neumococo se puede convertir en otro fué presentada por Griffith en 1923. Para lograrlo, Griffith inyectó en ratones una mezcla de la forma S viva de un tipo de neumococo y suspensión de neumococos virulentos de otro tipo, muertos por el calor. Dawson (1930) y Dawson y Sia (1931) produjeron esta transformación *in vitro* por desarrollo de formas S de un tipo de neumococo en un medio que contenía suero homólogo anti-S y organismos M íntegros de otro tipo muertos por el calor. Alloway, llevando estos experimentos más lejos, transformó neumococos S de cualquier tipo en formas M de tipos diferentes cultivándolos en caldo que contenía soluciones filtradas de precipitados alcohólicos de extractos de las formas M. En este medio los neumococos S, independientemente de su tipo, desarrollaron y retuvieron después todas las características específicas de tipo de los neumococos M en los cuales se preparó el extracto. Las formas S de neumococos parecían potencialmente capaces de producir polisacáridos capsulares en cualquier momento. En los amplios estudios recientes de Avery, MacLeod y McCarty (1944), un extracto de neumococos de tipo III en dilución de 1:600 000 000 convirtió un cultivo no capsulado, derivado de un neumococo de tipo II, en un típico organismo de tipo III (fig 48). El agente transformador químicamente era diferente del material capsular del neumococo de tipo III y se reproducía por las nuevas células. "Es evidente, por tanto, que no solamente se reproduce el material capsular en las generaciones sucesivas, sino que el factor primordial que condiciona la producción y especificidad del desarrollo capsular se reproduce también en las células hijas." McCarty y Avery (1946) demostraron que el agente transformador biológicamente activo era el ácido desoxirribonucleico.



FIG. 48. CONVERSIÓN DEL NEUMOCOCO DE TIPO II AL TIPO III.
Las colonias pequeñas son formas S del tipo II que se transformaron en colonias grandes o formas M del tipo III. (Según Avery, MacLeod y McCarty, *J. Exper M.*, 1944, 79:137.)

Las transformaciones asombrosas que acabamos de señalar plantean de nuevo la antigua cuestión de si los neumococos pueden o no transformarse en estreptococos. Topley y Wilson clasifican el organismo que hemos llamado *Diplococcus pneumoniae* en el género *Streptococcus* bajo el nombre específico de *Streptococcus pneumoniae.* Morgenroth y col. (1924) y Rosenow (1913) sustentaron la transformación de los neumococos en *Streptococcus viridans*, pero Reimann (1927) no pudo confirmar sus resultados. Aunque los neumococos de tipo S pueden semejar a *Streptococcus*

* P-C, iniciales de las palabras inglesas *Phantom Colony* (colonia fantasma). (N. del T.)

viridans en cuanto a formación de cadenas y desarrollo granular, suelen conservar su solubilidad en bilis y su capacidad para fermentar la inulina. Es concebible que tal efecto pueda ser forzado por otros métodos, pero sería preferible considerar tal cambio como una verdadera mutación dentro del género apenas más sorprendente que los cambios en los tipos inducidos por Avery y sus colaboradores (1944).

Metabolitos bacterianos. Los neumococos producen metabolitos importantes, distintos de los materiales capsulares específicos y característicos. Los *polisacáridos capsulares* son atóxicos, pero tienen gran importancia para determinar el poder patógeno de los neumococos. La cápsula de los neumococos vivos protege al organismo de los fagocitos y el material capsular de los neumococos muertos, conocido como la substancia soluble específica o substancia S.S.S., es tan soluble que se difunde por los tejidos, donde se junta y combina con los anticuerpos conforme éstos se van formando por el paciente. Este efecto neutralizante del anticuerpo por parte del polisacárido explica la naturaleza de la *virulina* que Rosenow (1912) extrajo de cultivos de neumococos y de pulmones de pacientes muertos de neumonía neumocócica.

Los polisacáridos capsulares actúan como haptenos o antígenos parciales cuando se ensayan en conejos. Pueden neutralizar los anticuerpos específicos en el tubo de ensayo, pero no pueden provocar la formación de anticuerpos en este animal. En ratones y hombres, los polisacáridos capsulares son antigénicos; han sido usados con éxito para producir inmunidad activa en el hombre contra la neumonía neumocócica (Felton y col., 1935; Heidelberger y col., 1947).

Tillett y Francis descubrieron en 1930 un *polisacárido somático de grupo* llamado substancia "C". MacLeod y Avery (1941) comprobaron que este material "C" era altamente antigénico, pero no tenía relación con los polisacáridos específicos ni con los constituyentes normales de los sueros humano o animal. McCarty (1947) aisló este material en forma cristalina de líquidos pleurales y abdominales.

Humphrey (1944) descubrió que algunos tipos de neumococos producían cantidades apreciables de *hialuronidasa*, aunque no había correlación entre la presencia o ausencia de esta enzima y la virulencia de la cepa.

Las *núcleoproteínas* de los neumococos no son tóxicas, pero sí antigénicas; producen reacciones locales y generales cuando se inyectan a un animal hipersensible (Zinsser y Grinnell, 1927).

Toxinas. Los efectos mecánicos producidos por los neumococos no pueden explicar la grave toxemia observada en pacientes con infecciones neumocócicas. No se han encontrado exotoxinas, pero las *endotoxinas* o autolizados de neumococos son netamente tóxicos y matan a los cobayos y conejos en algunos minutos por inyección (Macfadyen, 1906; Cole, 1912).

En cultivos desarrollados en condiciones óptimas aparecen pequeñas cantidades de *hemolisina oxígenosensible* (Todd, 1934). Parker (1928) ha descrito una *toxina necrosante* y Julianelle y Reimann (1926-27) una substancia de *tipo proteosa* que causa púrpura en los ratones. Avery y Goebel (1933) produjeron púrpura en ratones con la forma acetilada del polisacárido de neumococo tipo I, pero no con la forma deacetilada. Oram (1934) identificó una *leucocidina* relativamente termolábil que era activa contra los leucocitos del conejo. La toxina pirógena de Coca (1936) está aún en curso de investigación.

Consideramos que las hemolisinas, leucocidinas y otros tipos específicos de toxinas son de poca importancia en las infecciones neumocócicas. Los síntomas se pueden explicar adecuadamente por el muy rápido desarrollo y la igualmente rápida autólisis de los neumococos en los tejidos, con la consiguiente liberación de endotoxinas en gran cantidad.

Estructura antigénica. En 1910 Neufeld y Handel descubrieron que los neumococos se podían dividir en grupos específicos por métodos inmunológicos. Su trabajo fué pronto confirmado por Cole (1912) y Dochez y Gillespie (1913), quienes diferenciaron los tipos I, II, III y un grupo IV heterólogo. Más tarde, Cooper y sus colaboradores (1932) separaron el grupo IV en unos treinta y tantos tipos.

Los neumococos se pueden clasificar por la aglutinación del organismo intacto, por precipitación de los polisacáridos capsulares específicos o por la hinchazón de la cápsula cuando se mezclan los organismos con el antisuero de conejo específico del tipo correspondiente. Este último fenómeno, descrito primero por Neufeld en 1902 y vuelto a describir en 1931, se conoce ahora como reacción de Neufeld o *Quellung*. Esta hinchazón específica de la cápsula se utiliza para identificar el tipo del neumococo presente en pus o exudado o en una colonia aislada de un medio sólido.

Estructura química de la cápsula. Avery y sus colaboradores en el Hospital Rockefeller, estudiaron la estructura antigénica de los neumococos durante unos treinta años y han aportado gran parte de los conocimientos que existen acerca de estos organismos. Una cantidad enorme de investigación, tanto de orden químico como fisiológico, fué dedicada al estudio de la cápsula del neumococo cuando se supo que tanto la especificidad como la virulencia dependían de esta estructura. Dubos (1946) ha descrito los materiales capsulares como polisacáridos de alto peso molecular, los cuales son con frecuencia de naturaleza ácida y poseen grupos acetilo y amino. La gran asimetría de sus moléculas es causa de la viscosidad de sus soluciones y de su anisotropía. Desde la revisión de Heidelberger (1927-32) acerca de esta cuestión es evidente que el polisacárido principal de cada tipo de neumococo es químicamente distinto. El polisacárido del neumococo de tipo I contiene nitrógeno en combinación de aminoazúcar, es dextrógiro y por hidrólisis produce ácido galacturónico. El polisacárido de tipo II es un complejo dextrógiro de unidades glucosa débilmente ácidas; no contiene nitrógeno. El polisacárido de tipo III también libera nitrógeno, es levógiro y está compuesto de glucosa y ácido aldobiónico. Estas moléculas complejas de glucosa y ácidos urónicos no contienen fósforo o nitrógeno y no dan reacción coloreada con el yodo.

Antígenos comunes. Inmunológica y químicamente, se encuentran polisacáridos similares en los neumococos de tipo II, en la levadura y en el bacilo de Friedländer de tipo B. Se han observado reacciones serológicas cruzadas entre los bacilos del carbunco, neumococos de tipo XIV y el tipo antigénico A de la sangre humana (Ivanovics, 1940); el tipo XXV da aglutinaciones cruzadas con *Salmonella kirkee* (Bornstein, 1943).

Los cuerpos están compuestos de proteínas y carbohidratos antigénicos, los mismos para todos los neumococos independientemente de su tipo. Estos antígenos provocarán la formación de anticuerpos específicos cuando se inyectan a un animal adecuado. Sin embargo, este suero antibacteriano no es útil para combatir las infecciones neumocócicas porque los antígenos somáticos vitales están protegidos de los anticuerpos por el material capsular. De todas formas, no debe suponerse que los antígenos somáticos y las enzimas intracelulares carecen de importancia en la determinación de la virulencia de los neumococos. En realidad tiene mucha, no solamente en la elaboración del polisacárido capsular protector, sino que por otros mecanismos más obscuros determinan la virulencia potencial máxima del organismo (Dubos, 1946). Esto ha sido demostrado de manera concluyente en los estudios relativos a transformaciones de tipos entre los neumococos (MacLeod y McCarty, 1942). Bailey y Shorb (1931) aislaron de cultivos de neumococo un *antigeno heterófilo* que formaba hemolisinas para los glóbulos rojos de carnero cuando se inyectaba al conejo.

Hidrólisis enzimática. Aunque el material capsular es esencial para la virulencia, no es necesario para la vida y el desarrollo del neumococo. Las cápsulas se pueden destruir por *hidrólisis enzimática* sin afectar la viabilidad del cultivo. La primera observación de esta naturaleza fué hecha en 1931 por Avery y Dubos, quienes obtuvieron de los cultivos de un organismo aislado de una turbera en Nueva Jersey una enzima bacteriana que hidrolizaba específicamente el polisacárido de tipo III. Esta enzima bacteriana intracelular se puede extraer de bacilos. Suprime las cápsulas del neumococo del tipo III por descomposición del polisacárido capsular, hace a los organismos no virulentos y fácilmente fagocitables. Si se inyecta la enzima a ratones los protege contra el neumococo virulento de tipo III y ejerce acción curativa para una infección establecida. Goodner y Dubos, estudiando la relación entre la cantidad de enzima y el curso de la enfermedad en la infección neumocócica cutánea experimental del conejo, determinaron que existe relación fundamental entre la cantidad de enzima y la cantidad total de polisacárido específico presente en el cuerpo. Señalaron que esta "enzima no es una substancia terapéutica *per se*, sino que al descomponer la cápsula de los neumococos los prepara para la fagocitosis e inicia un proceso que el organismo debe estar en condiciones de efectuar si el animal ha de recuperarse. Así, pues, para emplear esta enzima debe contarse con dicha capacidad del organismo para completar la reacción". Otras enzimas bacteriolíticas activas contra los polisacáridos de los neumococos han sido descubiertas por Dubos (1946) en sueros inmunes, en leucocitos y en tejidos de animales.

Cutirreacciones con polisacáridos. Tillett y Francis (1930) inyectaron intradérmicamente a pacientes neumónicos polisacáridos específicos purificados y observaron reacciones variables según el estado inmunológico del paciente. La dosis fué de 0,1 c.c. de solución salina fisiológica, que contenía 0,01 mg de polisacárido específico (Francis, 1933). En los primeros días de la enfermedad, cuando había un exceso de polisacárido específico en la sangre y en los tejidos, la prueba era negativa. Pero después de una crisis espontánea, o después de seroterapia adecuada, cuando había exceso de anticuerpos específicos en la sangre y en los tejidos, la inyección intradérmica del polisacárido iba seguida a los 20 ó 30 minutos por la aparición de pápulas con seudópodos rodeada por una zona de eritema.

Alergia. El papel de la alergia en las infecciones neumocócicas no ha sido tenido en cuenta (Zinsser y Grinnell, 1927; Julianelle, 1930). Las proteínas específicas son comunes a todos los tipos de neumococos; por lo tanto, la sensibilidad a las proteínas somáticas se puede presentar en un paciente como resultado de infección subclínica previa con neumococos, antes del desarrollo de una neumonía neumocócica. El repentino comienzo explosivo de la neumonía en el adulto, con escalofríos, fiebre, expectoración hemorrágica y rápida consolidación de los pulmones, sugiere una reacción alérgica en contraste con el desarrollo más gradual y lento de la neumonía bronquial o lobular que suele observarse en los niños.

Fagocitosis. La fagocitosis es el mecanismo esencial para la destrucción de los neumococos dentro del cuerpo. Los polinucleares neutrófilos y los monocitos captan y destruyen rápidamente a los organismos no capsulados. Los animales que no han sido previamente expuestos a los neumococos no pueden fagocitar los organismos capsulados a menos que se les suministren anticuerpos específicos. Los sueros de los individuos llamados normales tienen el poder de hacer fagocitables y destruir cierto número de neumococos. Estos anticuerpos pueden ser verdaderas opsoninas normales, pero más probablemente son anticuerpos específicos provocados por infecciones subclínicas previas con neumococos. Este último punto de vista está sostenido por el trabajo de Sia (1926), Ward (1930) y Ward y Enders (1933),

quienes han demostrado que los polisacáridos específicos inhiben por completo las opsoninas homólogas normales así como las opsoninas adquiridas por inmunización activa o pasiva.

La suposición de que los leucocitos no pueden fagocitar neumococos capsulados sin la presencia de opsoninas específicas, ha sido estudiada recientemente por Barry Wood (1946), quien señaló que todos los estudios de laboratorio sobre fagocitosis han sido llevados a cabo en recipientes con superficies lisas como las de frascos y tubos de ensayo. Cuando se emplearon superficies rugosas, como papel filtro o pulmones de ratas después de la fijación con formaldehido, los neumococos capsulados eran fagocitados en ausencia de opsoninas específicas. Esta observación proporcionó una explicación para la fagocitosis y eliminación de los neumococos de los pulmones de los animales tratados con sulfonamidas en fase en que no hay opsoninas libres. Las sulfonamidas por sí mismas no aumentan la sensibilidad de los neumococos a la fagocitosis cuando se estudian en recipientes de vidrio. Estos estudios de Wood sirven para explicar cierto número de observaciones obscuras, y al parecer contradictorias, pero no alteran nuestro concepto básico de que las opsoninas son esenciales para la recuperación espontánea de las infecciones neumocócicas y de gran ayuda en el restablecimiento después de la terapéutica por penicilina o sulfonamidas. Por ejemplo, con tratamiento por sulfonamidas la temperatura puede volver a la normal al segundo día de la enfermedad, pero puede haber recaída si no se continúan las sulfonamidas hasta el quinto día o hasta que el paciente ha producido anticuerpos adecuados. Los neumococos que producen la recurrencia con frecuencia son resistentes a las sulfonamidas y el tratamiento subsiguiente con estos agentes es ineficaz. Afortunadamente, las cepas sulfonamidorresistentes se dominan fácilmente con la penicilina (Tillett y col., 1945).

Neumonía espontánea en los animales. Los neumococos han sido aislados en ocasiones de las vías respiratorias superiores de cobayos, conejos, caballos, terneras, perros y monos aparentemente sanos (Finland, 1942). En los cultivos hechos de un grupo de monos normales poco tiempo después de recibidos del proveedor, Seegal y colaboradores (1936) encontraron muchas razas de neumococos humanos patógenos, incluyendo los tipos III, IV, V, VII, VIII, IX y XII. En una epidemia de neumonías entre monos, se aislaron neumococos de tipo II de todos los animales infectados y que estuvieron en contacto con ellos (Wisner, 1928). En Berlín se encontraron neumococos de tipo XIX en cobayos normales infectados (Neufeld y col., 1931).

Cierto número de epidemias espontáneas de neumonía neumocócica en cobayos han sido estudiadas por diferentes investigadores (Finland, 1942). Los hallazgos epidemiológicos en general son sorprendentemente similares a los obtenidos en estudios semejantes de grupos aislados de hombres.

Infecciones neumocócicas experimentales. Los ratones blancos y los conejos son muy susceptibles a las infecciones experimentales con neumococos; los cobayos, perros, ratas y gatos son más resistentes y las aves son prácticamente inmunes. Las inoculaciones subcutáneas de neumococos virulentos en ratones suelen producir exudación edematosa en el punto de la inoculación, que origina septicemia y la muerte en 24 a 72 horas. La inoculación intravenosa suele ir seguida de muerte más rápidamente que la subcutánea. La inyección intraperitoneal de ratones y conejos produce una peritonitis que se extiende rápidamente. En todas estas infecciones, la muerte va precedida de septicemia; los microorganismos se pueden obtener de la sangre del corazón.

Por inyección de neumococos virulentos en la piel de conejos se ha producido un proceso patológico llamado *neumonía cutánea* (Goodner, 1928). La neumonía

cutánea puede acabar por crisis, lisis o septicemia mortal; ha sido muy útil para estudiar cierto número de problemas patológicos e inmunológicos.

De ordinario, cuando los ratones inhalan neumococos, desarrollan una septicemia y mueren sin hepatización de los pulmones. Stillman y Branch (1925) modificaron la resistencia de ratones por inmunización parcial y después obligaron a los animales a inhalar neumococos en tanto que eran intoxicados con alcohol. Se desarrollaron neumonías definidas en el 30 por ciento de los ratones intoxicados.

En las ratas blancas se puede producir una neumonía uniformemente mortal por inoculación intratraqueal de neumococos virulentos suspendidos en mucina (Wood e Irons, 1946).

La neumonía lobar se puede producir ocasionalmente en los perros por inyección de cultivos dentro de los bronquios y arrastre de los organismos por corriente de aire hacia los bronquiolos (Lamar y Meltzer, 1912; Winternitz e Hirschfelder, 1913). Se obtienen resultados más uniformes suspendiendo los neumococos en soluciones de almidón (Robertson, 1937). El paralelismo más notable entre la infección experimental y la neumonía humana ha sido obtenido por Blake y Cecil (1920). Utilizando *Macacus* y otras especies de monos, inyectaron pequeños volúmenes (0,1 a 0,2 c.c.) de cultivos de neumococos virulentos directamente en la tráquea y después de uno o más días de incubación obtuvieron neumonías lobares típicas.

Tipos clínicos de infección en el hombre. Además de la neumonía, los neumococos producen infecciones sinusales; en ocasiones, *otitis media, osteomielitis, artritis* y *peritonitis*. La peritonitis neumocócica ocurre casi exclusivamente en los niños, particularmente en el sexo femenino, en que los neumococos pueden ser transportados a los genitales por las manos y alcanzar el peritoneo por las trompas de Falopio.

Los neumococos causan una forma grave de *úlcera de la córnea*, difícil de tratar.

La *meningitis* puede ser primaria o secundaria a infecciones de los senos o neumonía. De los 50 casos estudiados por White y colaboradores (1945), 29 fueron primarios, 12 consecutivos a infecciones de las vías respiratorias superiores y solamente 9 se desarrollaron durante una neumonía. Un tercio de los casos fueron causados por los tipos III, IV y V.

Las complicaciones comunes de la neumonía neumocócica son: *septicemia, empiema, endocarditis, pericarditis, meningitis* y *artritis*.

Las *neumonías neumocócicas secundarias* consecutivas a infecciones por virus, como sarampión e influenza, son menos frecuentes que las neumonías estreptocócicas, pero más comunes que las infecciones estafilocócicas.

La *neumonía neumocócica*, particularmente de tipo lobar, es la más característica de las infecciones neumocócicas. Las frecuencias relativas de los diversos tipos de neumococos en la neumonía lobar, se indican en la tabla siguiente.

FRECUENCIA DE TIPOS DE NEUMOCOCOS EN 5 779 CASOS DE NEUMONÍA LOBAR *

TIPOS	CASOS	POR CIENTO
I	1 642	28,4
II	704	12,2
III	691	11,9
IV	275	4,8
V	409	7,1
VI	95	1,6
VII	358	6,2
VIII	397	6,9
IX-XXXII	1 208	20,9

* (Cecil, R. L., "Neumonia Lobar". De *A Textbook of Medicine*. Editado por Russell L. Cecil W. B. Saunders Co. Philadelphia, 1937.)

Sin embargo, como la frecuencia de los diferentes tipos de neumococos en la boca de las personas normales guarda relación evidente con el problema de la autoinfección, presentamos en forma de tabla los datos de las observaciones de Avery, Chickering, Cole, Dochez, Cecil y Park, para dar una indicación general de esta frecuencia en personas que se suponen libres de contactos con pacientes de neumonía.

Hay diferencias de opinión en lo que concierne a la patogenia de las infecciones neumocócicas pulmonares. Se ha sugerido una invasión primaria de la corriente sanguínea, pero esto no explica adecuadamente el cuadro común de la infección en un lóbulo. Winternitz, Smith y Robinson (1920) creen que una invasión primaria de los linfáticos de la tráquea va seguida de diseminación retrógrada por vía linfática hasta los lóbulos. En nuestra opinión, ésta no es explicación adecuada de la neumonía unilobular o de la infección sucesiva de lóbulos adyacentes con intervalos de varios días. La más clara es la de una simple aspiración de neumococos desde las vías respiratorias superiores, pero esta hipótesis es difícil de aceptar a causa de las dificultades encontradas al intentar producir neumonía en los animales de experimentación por inyección intranasal e intratraqueal de cultivos. Sin embargo, los éxitos recientes en la producción de neumonía en perros y ratas por tal vía, usando organismos suspendidos en almidón o mucina, disminuyen el valor de esta objeción. Estas observaciones sugieren que el aumento de la secreción de moco en las vías respiratorias superiores consecutiva a catarros, exposiciones y enfriamientos puede ser importante, por cuanto vienen a constituir la reproducción natural de los experimentos antes mencionados.

La significación de los experimentos de Zinsser y Grinnell (1927) no ha sido apreciada propiamente en las diversas teorías concernientes a la patogenia de la neumonía lobar. Estos investigadores produjeron en animales un estado alérgico con las núcleoproteínas del neumococo; como casi todos los adultos han tenido oportunidad de desarrollar sensibilidad para las núcleoproteínas del neumococo por infecciones previas de las vías respiratorias superiores, como en los resfriados por virus, es probable que una parte al menos del comienzo repentino, virulento, hemorrágico de la neumonía lobar sea de naturaleza alérgica. El factor alérgico explicaría también los resultados obtenidos por Robertson (1937-38) en la neumonía experimental en perros: el primer ataque iba seguido por un aumento de los anticuerpos antineumocócicos en el suero, pero que estos anticuerpos no protegían al perro de un segundo ataque experimental iniciado con la misma pequeña dosis de neumococos u otra menor. El factor alérgico también puede explicar en parte los ataques recurrentes de neumonía debidos a neumococos de tipo III, que, como se sabe, ocurren sobre todo en individuos portadores de este organismo en focos infectados de los senos.

Aunque las bacterias se desarrollan rápidamente, hay también una rápida autólisis de los neumococos, liberándose así endotoxinas que intoxican al paciente y también grandes cantidades de polisacáridos capsulares específicos, que son solubles, ingresan en la circulación y neutralizan los anticuerpos específicos conforme se van produciendo. La recuperación espontánea empieza cuando las células del paciente han producido bastantes anticuerpos para neutralizar todos los polisacáridos circulantes específicos y un exceso suficiente para modificar las cápsulas de los organismos vivos, haciéndolos así sensibles a la fagocitosis específica. La crisis clínica es una indicación de recuperación inmunológica, pero no significa curación anatómica puesto que los pulmones están aún consolidados y son necesarios de cuatro a ocho días para que las enzimas celulares autolíticas y los macrófagos dejen los alvéolos en estado normal. Si la naturaleza no puede llevar a cabo este milagro de inmunidad,

FRECUENCIA DE TIPOS DE NEUMOCOCOS EN LAS BOCAS DE PERSONAS NORMALES

TIPOS DE NEUMOCOCOS	INCIDENCIA	
	Núm. de casos	Por ciento
Neumococos presentes (todos los tipos)	328	41,52
Neumococos ausentes	462	58,48
Total	790	100,00
Tipo I	2	0,61
Tipo II	3	0,92
Tipo III	101	30,79
Grupo IV (Tipos IV a XXXII)	222	67,68
Total	328	100,00

Según el Dr. Maxwell Finland, del Hospital de la ciudad de Boston, los tipos más comunes de neumococos encontrados por él en cada uno entre cierto número de enfermedades por orden de frecuencia relativa, son los siguientes: *Neumonía lobar*, tipos I, III, II, VIII, VII, V, IV, XII, XIV, XVIII, X, VI, IX. *Bronconeumonía*, tipos III, VIII, XX, V, X, XVIII, VII, IV. *Meningitis*, tipos III, VIII, I, VII, X, V; también encontró II, IV. XI y XIV. *Otitis media* y *mastoiditis*, tipos III, V, II, XIX.

Según el doctor Finland, los microorganismos más importantes, en lo que respecta a invasión de la corriente sanguínea, son: II, III, V, VIII, I, VII; según él, la bacteria del tipo III casi siempre es mortal en los adultos. El tipo VIII, III atípico de Sugg y Harris, tiene la mortalidad más baja para los casos de bacteremia. La de mortalidad con tipo V (el antiguo II*a*) es casi tan alta como la del tipo II. El doctor Finland ha encontrado los neumococos V y VII casi tan favorablemente influídos por el antisuero específico como los de tipo I. Bullowa ha publicado los resultados logrados con seroterapia para los tipos VIII y XIV.

los productos tóxicos continúan acumulándose y el paciente muere por combinación de agotamiento, anoxemia y colapso circulatorio periférico.

Con la terapéutica por las sulfonamidas el desarrollo de los neumococos se retrasa de manera muy evidente, aunque su metabolismo permanece esencialmente inalterado (Kempner, 1942). Con la inhibición del desarrollo hay una reducción correspondiente en la velocidad de producción de endotoxinas y polisacáridos neutralizantes de los anticuerpos. De aquí que se requieren muy pocos anticuerpos específicos para producir crisis.

Con el tratamiento por penicilina los neumococos no solamente hacen más lento su desarrollo, sino que realmente mueren, lo cual explica la superioridad terapéutica de la penicilina sobre las sulfonamidas. La penicilina es tan eficaz que en la infección neumocócica dérmica experimental en conejos, si el tratamiento se empezaba dentro de las seis horas que seguían a la infección, todos los cocos morían antes que hubiera suficiente estimulación antigénica para producir inmunidad, y los animales supervivientes eran tan susceptibles a nuevas infecciones con neumococos como los testigos normales.

Neumonía recidivante. Los pacientes convalecientes de un tipo de neumonía pueden tener otro ataque con un tipo diferente adquirido en la sala del hospital, de un paciente vecino o de un asistente. Se han observado verdaderas recurrencias con el mismo tipo de neumococo en pacientes que se han restablecido con tratamiento demasiado corto a base de sulfonamidas o penicilina.

Verdaderas recidivas después de meses o años, se han observado con mayor frecuencia en neumonías que en cualquiera otra enfermedad infecciosa aguda. La

tabla siguiente muestra que las recidivas suelen ser causadas por un tipo diferente de aquel que inició la infección original. Sin embargo, los neumococos de tipo III causan ataques repetidos en el mismo individuo. En este tipo de recurrencia se debe sospechar la existencia de un foco crónico de infección en un seno craneal.

RELACIÓN ENTRE LA TERAPÉUTICA SEGUIDA EN EL PRIMER ATAQUE Y EL TIPO DE NEUMOCOCO ENCONTRADO EN LAS RECIDIVAS DENTRO DE DOS AÑOS

TERAPÉUTICA EN EL PRIMER ATAQUE	RECIDIVAS DENTRO DE DOS AÑOS		
	Número total	Número con el mismo tipo	Número con tipo diferente
Terapéutica no específica ..	60	10	50
Suero	19	3	16
Sulfonamidas	18	10	8
Suero más sulfonamidas ...	6	3	3
Total	103	26	77

(Según Straus, E., y Finland, M., *Ann. Int. Med.*, enero de 1942, 16:17.)

Hemocultivos en la neumonía. Durante el curso de la neumonía es común la septicemia neumocócica. Fränkel, en 1902, expresó la creencia de que en la mayor parte de los casos de neumonía, si no en todos, los organismos están presentes en la corriente sanguínea en algún período de la enfermedad. La literatura más antigua, revisada cuidadosamente, da hemocultivos positivos en casi el 25 por ciento de los casos. En el Hospital Rockefeller, donde se hicieron hemocultivos sistemáticos, según Cole en 448 casos de neumonía lobar se obtuvieron neumococos por hemocultivo en el 30,3 por ciento. Cuando los hemocultivos se hicieron repetidamente con breves intervalos, los hallazgos fueron positivos en el cincuenta por ciento de los casos. Al hacer los hemocultivos es importante extraer y sembrar un volumen considerable de sangre. La sangre para el cultivo se toma de la vena basílica, con una jeringa estéril, como sigue:

Debe añadirse un mínimo de 5 a 10 c.c. de sangre a cada matraz de caldo de carne glucosado y regulado a pH de 7,8 que no contenga menos de 100 c.c. de medio. Al mismo tiempo deben prepararse placas d agar glucosado, de pH 7,8; se les añadirán volúmenes cada vez menores de sangre a las placas sucesivas para lograr una estimación numérica del número de organismos por c.c. El desarrollo con frecuencia es lento; no se debe dar informe negativo en tres días por lo menos.

Cole y otros autores han atribuído gran significación pronóstica a los hemocultivos. Cole cree que la septicemia es de significación pronóstica muy grave y la determinación del tipo de los organismos de los hemocultivos es importante, puesto que la mortalidad de los casos de tipo II en sangre es, según él, del 73,4 por ciento y en los casos de tipo III es de ciento por ciento, mientras que en los casos del grupor IV no pasa del 52,3 por ciento; el valor mínimo de 26 por ciento, observado en casos de hemocultivo con tipo I, lo atribuye al tratamiento con suero.

Mortalidad. La mortalidad en la neumonía depende de la raza, sexo, edad, y estado general del paciente, tipo de neumococo infectante, el grado de lesión del pulmón, la presencia o ausencia de septicemia, la aparición de complicaciones, la prontitud de la terapéutica específica y de muchos otros factores. La experiencia general ha señalado que el promedio de mortalidad viene a ser del 30 por ciento en los pacientes no tratados. La más alta proporción de muertes ocurre en las infec-

ciones con los tipos I, II y III; varía entre 35 y 50 por ciento. Citando de nuevo a Cecil presentamos las siguientes estadísticas:

PORCENTAJE DE MORTALIDAD PARA LOS PRIMEROS OCHO TIPOS DE NEUMONÍAS NEUMOCÓCICAS *

TIPOS	CASOS	MUERTES	POR CIENTO
I	762	288	37,7
II	557	258	46,3
III	999	474	47,4
IV	166	42	25,3
V	254	73	28,8
VI	68	18	26,4
VII	227	50	22,0
VIII	295	55	18,6

* Cecil, R. L. "Neumonía Lobar", de *A Textbook of Medicine*, editado por Russell L. Cecil, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1937, p. 125.)

Transmisión. Como el 25 al 50 por ciento de la población es portadora de neumococos virulentos en la nasofaringe (Finland, 1942), es lógico preguntarse por qué la proporción de ataques neumocócicos no es infinitamente mayor y por qué no todo el mundo sufre neumonía clínica. Los neumococos desaparecen de la nasofaringe del convaleciente en dos o tres semanas, a menos de que tenga un foco en uno de los senos nasales. Incluso los portadores asintomáticos están constantemente perdiendo los tipos antiguos y adquiriendo tipos nuevos de neumococos (Straken, Hill y Lovell, 1939). Smillie y Jewett (1940) y Finland (1942) han seguido la diseminación epidémica asintomática de un tipo específico de neumococo a través de un grupo familiar y observaron el desarrollo esporádico de casos clínicos de neumonía. Finland estudió una familia numerosa en la cual había ocurrido un solo caso de neumonía por neumococos de tipo V. La mayor parte de los otros miembros de la familia fueron portadores del tipo V. Entonces un miembro trajo un nuevo neumococo de tipo XXII que se diseminó rápidamente por toda la familia y dió lugar a tres casos de neumonía de tipo XXII. El primer portador del tipo XXII no presentó signos de infección, pero no obstante, tuvo un título alto de aglutininas para el organismo homólogo.

De los numerosos estudios de esta clase cabe concluir que la mayor parte de las infecciones neumocócicas parecen ser asintomáticas o subclínicas. Es evidente que hay que llenar cierto número de condiciones antes de obtener un solo caso de neumonía clínica; tales son: 1) susceptibilidad individual, 2) presencia de un neumococo virulento y, la más importante de todas, 3) factores accidentales ambientales e inmunológicos que desencadenan la infección. Entre estos factores adicionales se deben registrar: 1) catarros por virus; 2) hacinamientos; 3) industrias que producen mucho polvo; 4) nutrición deficiente; 5) fatiga excesiva; 6) enfriamiento, y 7) alcoholismo. Entre los factores inmunológicos cabe suponer: 1) el fracaso para producir anticuerpos, y 2) una hipersensibilidad para las proteínas del neumococo que facilitaría el desarrollo de la neumonía, si bien la importancia de estos factores no ha sido establecida. El factor accidental puede ser simplemente el mecánico de aspiración de neumococos, recubiertos de moco desde las vías respiratorias superiores, de manera que llegan a los bronquiolos más pequeños en unas horas.

Verdaderas *epidemias de neumonía* han ocurrido en familias, en campos militares durante la primera Guerra Mundial, en las industrias mineras en Sudáfrica y entre

los trabajadores constructores del canal de Panamá. Para los aspectos generales de estas epidemias debe consultarse la revisión de Finland (1942).

Productos biológicos. Los sueros antineumocócicos específicos de tipo se han producido en caballos y conejos; durante años se usaron en terapéutica, pero ahora han sido reemplazados por la penicilina y las sulfonamidas.

Los sueros para clasificación específica, producidos en conejos, son útiles para identificar los neumococos por la reacción de Quellung y esenciales para los estudios epidemiológicos.

Los polisacáridos específicos de tipo pueden usarse para determinar la presencia o ausencia de anticuerpos en los tejidos del paciente. Esta prueba y su interpretación han sido estudiados bajo el título de Pruebas cutáneas con polisacáridos, en la sección sobre estructura antigénica.

Tratamiento. El diagnóstico precoz es esencial para obtener los mejores resultados, tanto con penicilina como con sulfonamidas. Afortunadamente, no es necesario determinar el tipo de neumococos antes de empezar el tratamiento, puesto que todos los tipos son igualmente sensibles a estos agentes terapéuticos.

El tratamiento por las sulfonamidas ha reducido la mortalidad de la neumonía del 30 al 10 por ciento. Es necesario el tratamiento continuo con dosis adecuadas durante el período febril y tres a cuatro días después para prevenir el desarrollo de cepas sulfonamidorresistentes (véase la sección sobre resistencia).

La penicilina es eficaz para eliminar las cepas de neumococos que han adquirido resistencia a las sulfonamidas. En las mejores condiciones, la penicilina ha reducido la mortalidad de la neumonía neumocócica al 5 por ciento (Tillett y colaboradores, 1945).

Prevención. Rara vez será necesario llamar a oficiales sanitarios que trabajen en comunidades civilizadas para prevenir epidemias de neumonía primaria. Estas se desarrollarán en condiciones como las que prevalecen en los campos militares, posibles también en comunidades industriales defectuosamente organizadas, escuelas, campos de trabajo, etc., donde los trabajadores están forzados a dormir en barracas mal ventiladas, hacinados durante las horas de trabajo, o en minas y en instituciones donde hay mucha aglomeración. Tales condiciones pueden ocurrir entre poblaciones civiles en tiempo de hambre y penuria (guerra). Las epidemias de neumonía primaria sólo se producen cuando el hacinamiento, coincidiendo con la generalización de infecciones respiratorias leves, aumenta la distribución de las bacterias y, al mismo tiempo, la comunidad sufre por abrigo insuficiente, está insuficientemente nutrida y se halla sometida a exceso de trabajo. Lo más importante en la prevención de tales brotes es, por tanto, atender a la ventilación de los dormitorios colectivos, poner suficiente número de mantas en las camas, tener pies secos, alimentos calientes y suficientes y oportunidades para un buen descanso. Si esto se combina con el aislamiento de los individuos que tosen y estornudan, por lo menos dentro de la casa, si se evita escupir y se vigila cuidadosamente la limpieza de los utensilios de comida, la esterilización de los pañuelos, etc., tales epidemias cederán rápidamente.

Los casos diagnosticados de neumonía lobar deben señalarse a las autoridades sanitarias, como otras enfermedades infecciosas. Esto ha sido ya decretado por cierto número de departamentos de sanidad. En los hospitales los casos de neumonía deben ser tratados como transmisibles; estar aislados, o por lo menos mantenidos a una distancia conveniente de las demás camas, con separación de las camas por biombos y cuidado de la recolección y tratamiento de esputos y otras secreciones. Debe tenerse cuidado con los utensilios de comida y de limpieza general en vista de las posibilidades de transmisión antes indicadas. En vista de la probabilidad de

persistencia del estado de portador por cuatro o más semanas después de la convalecencia, debe tenerse gran cuidado en la desinfección de la boca y en la vigilancia al respecto antes que los pacientes sean devueltos a sus casas.

Inmunización activa. El trabajo inicial de Lister (1916-35) y sus colaboradores en las minas de Sudáfrica demostró la eficiencia de la vacunación profiláctica con los tipos predominantes de neumococos. Intentos similares en el Ejército norteamericano durante la primera Guerra Mundial, tuvieron menos éxito (Finland, 1942). La demostración de Felton (1938-40) de que los polisacáridos específicos podían causar inmunidad en el hombre estimuló a reanudar los estudios. Durante la segunda Guerra Mundial, MacLeod, Hodges y Heidelberger (1945) inyectaron la mitad de los soldados de una escuela de la fuerza aérea militar con una sola dosis de vacuna que contenía 0,03 a 0,06 mg de polisacáridos de neumococos I, II, V, VII. Estos tipos, junto con el IV y el XII, eran los predominantes en esa institución durante el comienzo del invierno. Para comparar no se incluyeron en la mezcla los tipos IV y XII. Hubo una reducción en el número de neumonías de todos los tipos después de la vacunación, pero más claramente de los tipos correspondientes a la vacuna de polisacáridos. La inmunidad apareció a las dos semanas, alcanzó un máximo en seis semanas y duró un mínimo de seis meses.

La vacunación profiláctica con polisacáridos específicos puede ser el método más directo y eficaz de prevenir epidemias de neumonía cuando las precauciones higiénicas y sanitarias han resultado ineficaces o existe una situación de extrema gravedad.

BIBLIOGRAFIA

Avery, O. T., and Dubos, R. J. *J. Exper. M.*, 1931, 54:51, 73.
——— and Goebel, W. F. *J. Exper. M.*, 1931, 54:431, 437.
——— *J. Exper. M.*, 1933, 58:731.
———, MacLeod, C. M., and McCarty, M. *J. Exper. M.*, 1944, 79:137.
Bailey, G. H., and Shorb, M. S. *Am. J. Hyg.*, 1931, 13:831.
Blake, F. G., and Cecil, R. L. *J. Exper. M.*, 1920, 31:499.
——— and Trask, J. D. *J. Bacteriol.*, 1933, 25:289.
Bohonos, N., and Subbarow, Y. *Arch. Biochem.*, 1943, 3:257.
Bornstein, S. *J. Immunol.*, 1943, 46:439.
Cecil, R. L. *Textbook of Medicine*, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1947, p. 123.
Chesney, A. M. *J. Exper. M.*, 1916, 24:387.
Coca, A. F. *J. Immunol.*, 1936, 30:1.
Cole, R. *J. Exper. M.*, 1912, 16:644; 1914, 20:346.
Cooper, G., Rosenstein, C., Walter, A., and Peizer, L. *J. Exper. M.*, 1932, 55:531.
Dawson, M. H. *J. Exper. M.*, 1930, 51:99, 123.
——— Hobby, G. L., and Olmstead, M. *J. Infect. Dis.*, 1938, 62:138.
——— and Sia, H. P. *J. Exper. M.*, 1931, 54:681.
Dochez, A. R., and Gillespie, L. J. *J.A.M.A.*, 1913, 61:727.
Dubos, R. J. *The Bacterial Cell*, Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass., 1946.
Eaton, M. D. *J. Bacteriol.*, 1934, 27, 271.
Felton, L. D. *Boston M. & Surg. J.*, 1924, 190:819.
——— *Am. J. Pub. Health*, 1940, 30:361.
——— *Michigan State Med. Soc. J.*, 1940, 39:181.
——— Sutliff, W. D., and Steele, B. F. *J. Infec. Dis.*, 1935, 56:101.
Finland, M. *Medicine*, 1942, 21:307.
Flosdorf, E. W., and Mudd, S. *J. Immunol.*, 1935, 29:389.
Francis, T. *J. Exper. M.*, 1933, 57:617.
Fränkel, A. *Ztschr. f. klin. Med.*, 1886, 10:426.
Goodner, K. *J. Exper. M.*, 1928, 48:1; 1931, 54:847.
Griffith, F. *Rep. Pub. Health*, Ministry of Health, London, 1923, No. 18, 1.
Heidelberger, M. *Physiological Rev.*, 1927, 7:107.
——— MacLeod, C. M., Hodges, R. G., Bernard, W. G., and Dilap, M. M. *J. Exper. M.*, 1947, 85:227.
Hiss. *Centralbl. f. Bakteriol.*, 1902, 31.
——— *J. Exper. M.*, 1905, 6:7, 317.

HUMPHREY, J. H. *J. Path. & Bacteriol.*, 1944, 56:273.
IVANOVICS, G. *Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therap.*, 1940, 97:402; 1940, 98:373.
JULIANELLE, L. A. *J. Exper. M.*, 1930, 51:625, 633, 643.
——— and REIMANN, H. A. *J. Exper. M.*, 1926, 43:87; 1927, 45:609.
KEMPNER, W. *Federation Proceedings*, 1942, 1:1.
KIRBY, W. M. M., and RANTZ, L. A. *J. Exper. M.*, 1943, 77:29.
KLUMPEN, W. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt. orig., 1932, 124:241.
LAMAR, R. V., and MELTZER, S. J. *J. Exper. M.*, 1912, 15:133.
LANDSTEINER, K. *The Specificity of Serological Reactions*, Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass., 1944.
LISTER, F. S., and ORDMAN, D. *Rep. So. African Inst. Med. Res.*, 1935, 7:1.
LISTER, F. S. *Rep. South African Inst. Med. Res.*, 1913, No. 2; 1916, No. 8; 1917, No. 10.
MCCARTY, M. *J. Exper. M.*, 1947, 85:491.
——— and AVERY, O. T. *J. Exper. M.*, 1946, 83:97.
MCKEE, C. M., and HOUCK, C. L. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1943, 53:33.
MACFADYEN, A. *Brit. M. J.*, 1906, 2:776.
MACLEOD, C. M., and AVERY, O. T. *J. Exper. M.*, 1941:73, 191.
——— and MCCARTY, M. *J. Clin. Invest.*, 1942, 21:647.
———, HODGES, R. G., and HEIDELBERGER, M. *J. Exper. M.*, 1945, 82:445.
MORGENROTH, J., SCHNITZER, R., and BERGER, E. *Ztschr. f. Immunitätsforsch.*, 1925, 43:169, 209.
NEUFELD, F. *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, 1902, 40:54.
——— and HÄNDEL. *Arb. a.d.k. Gsndhtsamte.*, 1910, 34:293.
——— and ETINGER-TULCZYNSKA, R. *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, 1931, 112:492; ibid., 1932, 114:324.
OLMSTEAD, M. *J. Immunol.*, 1917, 2:425.
——— and ORAM, F. *J. Immunol.*, 1934, 26:283.
PARKER, J. T. *J. Exper. M.*, 1928, 47:531, 695.
PASTEUR, L. *Bull. Acad. de méd.*, 1881, 10:76.
PAUL, J. R. *J. Exper. M.*, 1927, 46:807.
RANE, L., and SUBBAROW, Y. *J. Bacteriol.*, 1940, 40:695.
REIMANN, H. A. *J. Exper. M.*, 1927, 45:1.
——— *Arch. Int. M.*, 1936, 58:329; 1938, 62:305.
ROBERTSON, O. H. *J. Exper. M.*, 1937, 66:706; 1938, 67:575, 597.
ROSENOW, E. C. *J. Infect. Dis.*, 1907, 4:285; 1912, 11:480.
——— *J.A.M.A.*, 1913, 61:2007.
SEEGAL, B. C., HELLER, G., and JABLONOWITZ, J. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1936, 34:812.
SHIBLEY, G. S., and ROGERS, E. S. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1932, 30:6.
SHINN, L. E. *J. Bacteriol.*, 1937, 33:18.
SIA, R. H. P. *J. Exper. M.*, 1926, 43:633.
SMILLIE, W. G., and JEWETT, O. F. *Am. J. Hyg.*, 1940, 32:79.
STERNBERG. *Nat. Bd. Health Bull.*, 1881.
STILLMAN, E. G., and BRANCH, A. *J. Exper. M.*, 1925, 41:623, 631.
STRAKER, E., HILL, A. B., and LOVELL, R. *Rep. on Pub. Health & Med. Subjects*, No. 90, Ministry of Health, His Majesty's Stationery Office, London, 1939.
STRAUSS, E., and FINLAND, M. *Ann. Int. Med.*, 1942, 16:17.
STRYKER, L. M. *J. Exper. M.*, 1916, 24:49.
TILLETT, W. S., MCCORMACK, J. E., and CAMBIER, M. J. *J. Clin. Invest.*, 1945, 24:589.
TILLETT, W. S., and FRANCIS, T. *J. Exper. M.*, 1930, 52:561.
TODD, E. W. *J. Path. & Bacteriol.*, 1934, 39:299.
WADSWORTH, A. B., and SICKLES, G. M. *J. Exper. M.*, 1927, 45:787.
WARD, H. K. *J. Exper. M.*, 1930, 51:685.
WARD, H. H., and ENDERS, J. F. *J. Exper. M.*, 1933, 57:527.
WEICHSELBAUM. *Med. Jahrb.*, Wien, 1886.
WHITE, B. *The Biology of Pneumococcus*, The Commonwealth Fund., New York, 1938.
WHITE, W. L., MURPHY, F. D., LOCKWOOD, J. S., and FLIPPEN, H. F. *Am. J. Med. Sci.*, 1945, 210:1.
WINTERNITZ, M. C., and HIRSCHFELDER. *J. Exper. M.*, 1913, 17.
WINTERNITZ, SMITH, and ROBINSON. *Johns Hopkins Hosp. Bull.*, 1920, 31:63.
WISNER, B. *Compt. rend. Soc. de biol.*, 1928, 98:458.
WOOD, W. B., and IRONS, E. N. *J. Exper. M.*, 1946, 84:365, 377, 387.
ZINSSER, H., and GRINNELL, F. B. *J. Bacteriol.*, 1927, 14:301.
——— *New England J. Med.*, 1929, 200:853.
——— and PARKER, J. T. *J. Exper. M.*, 1923, 37:275.
——— and TAMIYA, T. *J. Exper. M.*, 1925, 42:311.

CAPITULO XXII

INFECCIONES CAUSADAS POR HEMOPHILUS INFLUENZAE Y OTROS ORGANISMOS DEL GRUPO HEMOFILO

Familia: *Parvobacteriaceae* Rahn. Grupo: *Hemophileae* Winslow y colaboradores. Género: *Hemophilus* Winslow y colaboradores. Especie: *Hemophilus influenzae* (Lehmann y Neumann) Winslow y colaboradores

El género *Hemophilus*, como se estableció originalmente, incluía las bacterias realmente hemófilas o hemoglobinófilas, así como organismos para los cuales la hemoglobina era un estimulante, pero no un factor esencial para el desarrollo. Las investigaciones subsiguientes han demostrado que *H. influenzae* requiere: 1) hemina (factor X) para la síntesis de citocromo, citocromoxidasa, catalasa y peroxidasa, y 2) una de las dos codehidrogenasas, di- y trifosfopiridinnucleótidos (factor V) (Lwoff y Lwoff, 1937).

La sangre total contiene dos factores necesarios para el desarrollo de *H. influenzae*: un factor "X" termoestable y un factor "V" termolábil; el último es destruído por esterilización al autoclave a 120° C. durante quince minutos. La hemina (factor X) es reemplazable por la cisteína que disminuye la formación de peróxido por los organismos en desarrollo activo y hace que la catalasa no sea imprescindible para el desarrollo. El factor V se puede suplir por extractos de levadura o patata. Muchas bacterias sintetizan su propio ácido nicotínico; prácticamente, todos los microorganismos, excepto ciertos miembros del grupo *Hemophilus*, pueden completar la síntesis de las codehidrogenasas cuando se les suministra ácido nicotínico.

La tabla siguiente muestra que *H. canis* requiere el factor X, pero no el factor V, mientras que *H. parainfluenzae* necesita el factor V, pero no el X. Lwoff y Lwoff (1937) y Kohn y Bernheim (1939) han utilizado *H. parainfluenzae* para medir cuantitativamente las codehidrogenasas de la sangre humana.

REQUERIMIENTOS PARA EL DESARROLLO

ORGANISMO	FACTOR X (Termoestable)	FACTOR V (Termolábil)	HEMÓLISIS
H. Influenzae	+	+	—
Bacilo de Koch-Weeks	+	+	—
H. suis	+	+	—
H. hemolyticus	±	+	+
H. canis	+	—	—
H. ducreyi	+	—	+
H. parainfluenzae	—	+	±
H. pertussis	—	—	+
M. lacunata	—	—	±
H. bronchisepticus	—	—	+

H. pertussis y *M. lacunata* al parecer no requieren ni el factor X ni el V, pero se han incluído en el grupo hemófilo por otras analogías morfológicas y culturales.

Se ha seguido la clasificación de Topley y Wilson, colocando *H. bronchisepticus* en este grupo a causa de: 1) su parecido morfológico; 2) la presencia de antígenos comunes a *H. pertussis* y *H. bronchisepticus* (Ehrlich, Bondi, Mudd y Flosdorf, 1942; Eldering, 1942 y Evans, 1942), y 3) el aislamiento de este organismo de pacientes con síndrome de tos ferina (Brown, 1926).

Es evidente que el grupo hemófilo, tal como está ahora constituído, es heterogéneo y debe ser revisado, a menos que se puedan encontrar pruebas convincentes de que todas las especies citadas se han desarrollado a partir de un antecesor común.

INFECCIONES POR HEMOPHILUS INFLUENZAE

El organismo ahora conocido como *Hemophilus influenzae* fué aislado por Pfeiffer en 1892 de pacientes afectados de influenza epidémica y hasta 1918 se creyó que era la causa de esta infección pandémica. Sin embargo, *H. influenzae* comparte con los estreptococos, neumococos y estafilococos el muy importante papel de causar infecciones pulmonares secundarias durante las epidemias de verdadera influenza causadas por el virus específico. Es un desacierto que el nombre *influenza* haya sido dado a este organismo, puesto que *H. influenzae* (bacilo Pfeiffer) no causa la influenza; pero ello no disminuye su importancia como agente patógeno independiente, al igual que el neumococo o el estafilococo.

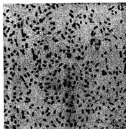


FIG. 49. HEMOPHILUS INFLUENZAE.

Frotis de un cultivo de organismos de meningitis; desarrollo de 24 horas en agar-chocolate.

Infecciones graves de los senos craneales, oído medio, faringe, bronquios y pulmones, son el resultado frecuente de invasiones por este organismo. Ocupa el quinto lugar en la lista de los gérmenes productores de meningitis; sólo le preceden el meningococo, el bacilo tuberculoso, el neumococo y los estreptococos (Neal, 1924). En algunos hospitales para niños, *H. influenzae* está registrado como la causa más frecuente de meningitis (Fothergill, 1937). En tal caso las infecciones parecen ocurrir esporádicamente y no van seguidas de epidemia.

El hombre es el único huésped natural conocido de *H. influenzae*. Se pueden aislar cepas virulentas de las faringes de casi todos los individuos normales; las cepas virulentas capsuladas se encuentran en infecciones crónicas de los senos nasales y de la faringe después de resfriados por virus. Los organismos son diseminados por toda la población. Fothergill y Wright (1933) han demostrado que la mayor parte de los adultos tienen en su sangre anticuerpos bactericidas para *H. influenzae*.

Morfología y tinción. *Hemophilus influenzae* es un bacilo muy pequeño de 0,5 micras de longitud y 0,2 a 0,3 micras de espesor. Estas formas regulares pequeñas se presentan en abundancia en las colonias lisas (fig. 49) y en la mayor parte de los exudados. En las colonias rugosas y en los exudados de las lesiones en curación, los organismos son muy pleomórficos; se encuentran en profusión formas cocoides, bastones y aun filamentos largos (fig. 50). En los cultivos en caldo y en el líquido cefalorraquídeo, la variación es tan constante que el hallazgo de tipos pleomórficos es la regla más bien que la excepción.

Las *cápsulas* se producen en los exudados y en los cultivos durante las primeras seis horas de desarrollo, en medios apropiados. El organismo es *inmóvil* y *no esporulado*. Se tiñe tenuemente con la mayor parte de los colorantes de anilina; una buena coloración requiere una exposición de cinco minutos al azul de metileno de Löffler o de 5 a 10 minutos en solución acuosa de la fucsina al 10 por ciento. *H. influenzae* es *gramnegativo* y en ocasiones se observa algo de tinción polar en las formas cocobacilares.

Caracteres de cultivo. *Hemophilus influenzae* requiere para su cultivo un medio rico que contenga ambos factores, el X y el V, que antes fueron descritos. El *Hemophilus influenzae* es *aerobio* y se desarrolla mejor cuando se incuba a 37° C. a un pH de 7,3. El organismo no se desarrolla a la temperatura de la habitación.



FIG. 50. HEMOPHILUS INFLUENZAE. Formas procedentes de colonia de tipo R.

H. influenzae se desarrolla pobremente en medios de agar-sangre simple y no crece en agar-ascitis o en agar-digerido, tríptico que se usa comúnmente para cultivos de líquido cefalorraquídeo.

El *agar-chocolate*, medio de elección para aislar *H. influenzae*, se prepara añadiendo del 5 al 10 por ciento de sangre de conejo desfibrinada al agar que ha sido fundido y enfriado hasta la temperatura de 80 a 90° C. Después de 18 a 24 horas, aparecen las colonias como gotitas pequeñas (0,5 a 0,8 mm) incoloras, transparentes, semejantes a pequeños puntos de humedad. El diámetro de la colonia puede aumentar hasta 1 a 1,5 mm si se incuba otras 24 horas. Grassberger (1897) y Rivers y Poole (1921) observaron que se obtenían en las placas colonias mayores de *H. influenzae* cuando los organismos se desarrollaban en estrecha proximidad con las colonias de estafilococos y otras bacterias determinadas. Este desarrollo *satélite* resulta de aumento en el suministro de factor V, por cuanto éste es sintetizado por los organismos asociados.

Colonias mayores se producen con irregularidad en los medios especiales ideados por Levinthal (1918) y Fildes (1920). Estos medios tienen la ventaja de ser transparentes, puesto que están preparados con factores X y V extraídos de la sangre, lo cual permite descartar las células obscuras y el sedimento. El medio de Fildes probablemente es el mejor para el aislamiento primario, pero el de Levinthal es superior para estudiar la formación de colonias y de los fenómenos de variación bacteriana.

En el medio de *caldo* de Levinthal los organismos capsulados virulentos producen desarrollo homogéneo y difuso después de una incubación de 24 horas; las formas avirulentas no capsuladas producen un desarrollo más granular, con sedimentación gradual de los organismos en el fondo del tubo.

Todas las cepas de *H. influenzae* reducen los *nitratos* a *nitritos*. Los organismos capsulados producen *indol*, pero muchos de los no capsulados pierden esta propiedad. Fermentan la *glucosa* lentamente con producción de *ácido sin gas*. *No fermentan la lactosa*. Algunas de las cepas avirulentas fermentan otros carbohidratos de manera irregular. *H. influenzae* es *soluble en bilis* (Pittman, 1931).

Resistencia. *H. influenzae* muere por exposición a la temperatura de 50 a 55° C. durante 30 minutos. La desecación causa rápidamente la muerte y todas las cepas son muy sensibles a los antisépticos comunes. Los cultivos se conservan con dificultad, pero los organismos se pueden mantener vivos y virulentos por pases frecuentes en agar-chocolate o por almacenamiento en la nevera si se suspenden en tubos de sangre total desfibrinada de conejo. Se preservan mejor mediante la liofilización.

La *penicilina* no tiene acción sobre *H. influenzae*, pero la *estreptomicina* inhibe el desarrollo en concentraciones de 1,56 a 5 microgramos por c.c. de cultivo líquido. Las *sulfonamidas*, particularmente la sulfapiridina y la sulfadiacina tienen acción inhibidora evidente.

Variabilidad. Pittman (1931), Smith (1931), Chandler, Fothergill y Dingle (1937-39) y otros autores han estudiado los fenómenos de variación de este organismo y han logrado establecer cierto orden en el caos que existía con anterioridad. Pittman sugirió que las colonias capsuladas se designasen como "S" y las no capsuladas como "R". Sin embargo, estamos más bien en favor de la clasificación sugerida por Chandler, Fothergill y Dingle que designa la fase capsulada mucoide tipo "M", la no capsulada pero de formas cocobacilares tipo "S" y las colonias rugosas con bacilos pleomórficos como verdadero tipo "R". Las colonias M sobre agar de Levinthal, son relativamente grandes; alcanzan a veces diámetros de 3 mm. Las colonias son ovales, con borde continuo de aspecto ligeramente mucoide y algo opacas. Cuando se miran con luz de incidencia oblicua son netamente irisadas (fig. 51). La forma S es algo más pequeña, la superficie es lisa pero puede estar ligeramente abovedada en el centro y el borde es continuo. Estas colonias han perdido la irisación característica de la fase M. La verdadera forma R es más pequeña, más translúcida, claramente granular o de aspecto rizado; con frecuencia tiene bordes dentados. Pittman (1931) ha revertido la forma lisa no virulenta, no capsulada, en la fase M virulenta por cultivo en medios que contenían suero anti-S y por pasos en el animal.

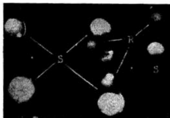


FIG. 51. COLONIAS DE H. INFLUENZAE, TIPOS S Y R. (Según Pittman.)

Metabolitos bacterianos. *H. influenzae* produce un polisacárido capsular específico que no es tóxico, pero que se acumula en la sangre y en el líquido cefalorraquídeo de los pacientes infectados y neutraliza así los anticuerpos específicos de nueva formación producidos por el paciente en respuesta a la infección (Alexander y colaboradores, 1942).

Endotoxinas. Estas se liberan después de la muerte de los microorganismos. Parker (1919) demostró que los filtrados de cultivos de bacilos *influenzae* jóvenes matan a los conejos en dosis de 1,5 a 3 c.c. De 45 a 105 minutos después de la inyección los animales presentan debilidad muscular manifiesta y se tienden en el fondo de la jaula. La muerte suele ocurrir en dos a seis horas.

Las cepas típicas de *H. influenzae* no producen hemolisinas. Hay, sin embargo, cierto número de cepas hemolíticas que han sido estudiadas por Pritchett y Still-

man (1919), Fildes (1924), Rivers y Valentine (1927) y Miles y Gray (1938). Algunas de estas cepas son, por lo demás, imposibles de distinguir del verdadero *H. influenzae;* otras difieren en que no requieren para su desarrollo factor X. Nosotros hemos propuesto clasificar la forma hemolítica de *H. influenzae* que requiere ambos factores X y V como *H. hemolyticus.* Se necesita un estudio más detallado de la formación de su colonia, estructura antigénica y virulencia antes de poder aceptar sin reservas tal clasificación.

Estructura antigénica. Todas las cepas de *H. influenzae* de alta virulencia tienen cápsulas de polisacárido que protegen a los organismos de la fagocitosis. Las cepas han sido clasificadas en tipos *a, b, c, d, e* y *f* por *precipitación* de carbohidratos o por reacciones de Quellung. Los detalles se encontrarán en la bibliografía que se acompaña (Pittman, 1931; Platt, 1937; Chandler, Fothergill y Dingle, 1939; Alexander, 1939; Alexander y Heidelberger, 1940; Silverthorne y colaboradores, 1943; Alexander y colaboradores, 1946).

La mayor parte de las infecciones meníngeas por *H. influenzae* que han sido publicadas, fueron causadas por el tipo *b,* aunque algún caso ocasional resultó de infección por los tipos *a* y *f* (Alexander y colaboradores, 1946; MacPherson y colaboradores, 1946).

Se han preparado antisueros contra el tipo *b* de *Hemophilus influenzae* por inmunización de caballos (Fothergill, 1937) y conejos (Alexander y Leidy, 1943).

En casos de meningitis, Alexander y colaboradores (1942) han medido la cantidad de polisacárido libre en la sangre y en el líquido cefalorraquídeo por precipitación con sueros terapéuticos titulados anti-*H influenzae* de conejo. Estos investigadores encontraron que había bastante relación entre la cantidad de polisacárido libre y la disminución de la glucosa en el líquido cefalorraquídeo.

Las reacciones de aglutinación son específicas para todos los tipos desde *a* hasta *f,* pero las cepas no capsuladas son completamente heterólogas. La técnica de fijación del complemento demuestra que hay un antígeno común en las diversas cepas aun en ausencia de aglutinación cruzada (Wollstein, 1919; Kristensen, 1922). Esto puede ser debido al uso como antígenos de bacilos parcialmente autolizados que exponen los antígenos de situación más profunda a la acción del anticuerpo. Este "antígeno común" algo teórico fué demostrado en 1939 por Platt, quien encontró que las cepas no capsuladas tienen un componente proteínico "P" relativamente específico y un componente proteínico "M" común.

Antígenos comunes. Las reacciones cruzadas entre los polisacáridos de *H. influenzae* y *Diplococcus pneumoniae* se resumen en la tabla siguiente:

REACCIONES CRUZADAS ENTRE NEUMOCOCOS Y SUEROS DIAGNÓSTICOS DE H. INFLUENZAE

TIPO DE NEUMOCOCO	SUERO DIAGNÓSTICO DE H. INFLUENZAE
Subgrupo 6	Tipo *a*
Subgrupo 6	Tipo *b*
* 11	Tipo *c*
* 15 A	Tipo *b*
Subgrupo 29	Tipo *b*
* 35 B	Tipo *b*

* No registrado hasta ahora.
(Según Alexander, H. E., Leidy, C., y MacPherson, G., *J. Immunol.,* 1946, 54:207.)

Enfermedad experimental en los animales de laboratorio. Los ratones pueden ser infectados por inyecciones intraperitoneales de cepas (M) capsuladas de *H. in-*

fluenzae; la mayor parte de las aisladas de los casos de meningitis son patógenas para los ratones. Fothergill y colaboradores (1937) han establecido un método tipo para producir infección mortal en estos animales introduciéndoles en el peritoneo los organismos junto con mucina. Este método ha sido usado también para ensayar la eficacia de diversas sulfonamidas, estreptomicina, sueros y combinaciones de sulfadiacina y sueros de conejo (Alexander y Leidy, 1943).

Blake y Cecil (1920) produjeron neumonía en monos inoculando las mucosas de las vías respiratorias superiores con cepas de *H. influenzae,* conocidas como virulentas para los ratones. Dochez y colaboradores (1932) han estudiado las infecciones con *H. influenzae* en chimpancés. Observaron que durante las infecciones con virus del resfriado común las cepas no específicas de tipo y relativamente innocuas de *H. influenzae,* que habitualmente existen en las vías respiratorias de estos animales, podían ser reemplazadas por razas específicas de tipo, mucoides y potencialmente patógenas.

Rivers y Bayne-Jones (1933) han aislado de los gatos bacilos semejantes a *H. influenzae.* Otros animales del laboratorio son resistentes a las infecciones por *H. influenzae,* aunque pueden morir por dosis relativamente grandes de las endotoxinas (véase la sección de toxinas).

Infecciones clínicas en el hombre. Las meningitis debidas a *H. influenzae* ocurren con mayor frecuencia en los niños. La enfermedad raramente empieza antes de la edad de dos meses y en contadas ocasiones se observa en adolescentes y adultos. La mayor parte (85 por ciento) de los casos de meningitis por influenza ocurren entre los dos meses y los tres años de edad (Fothergill, 1937). La meningitis en adultos suele provenir de infecciones crónicas de los *senos craneales, oído medio* o *celdillas mastoideas.*

Las meningitis por el bacilo de la influenza tienen una mortalidad de cerca del 98 por ciento, cuando no son tratadas. El diagnóstico se puede establecer por el hallazgo de cocobacilos gramnegativos o una mezcla de cocobacilos y formas pleomórficas en los frotis teñidos de líquido cefalorraquídeo. Los organismos se pueden identificar inmediatamente clasificándolos por el método de Quellung o hinchazón de las cápsulas con antisueros de conejo específicos de tipo (Alexander, 1939). Con frecuencia se puede obtener una reacción positiva del indol por ensayo directo del líquido cefalorraquídeo. Cuando se sospecha meningitis por influenza y no se pueden encontrar microorganismos en los frotis del cefalorraquídeo, el sedimento centrifugado debe sembrarse en caldo de Levinthal; la clasificación se lleva a cabo en los organismos del cultivo en caldo después de transcurridas 18 a 24 horas. Con frecuencia los hemocultivos son positivos en casos de meningitis por influenza; a veces este organismo se puede clasificar directamente a partir del moco extraído de la nasofaringe.

La *neumonía primaria por bacilo de la influenza* suele tener un comienzo insidioso, carácter intersticial y producir cianosis y postración intensas.

La *neumonía secundaria por bacilo de la influenza* consecutiva a la infección por virus de influenza, es una enfermedad grave, con mortalidad relativamente alta en los casos no tratados. La asociación de *H. influenzae* con infecciones por virus ya ha sido estudiada en la sección de neumonía, en los capítulos que tratan de estafilococos y estreptococos.

Las infecciones de las vías respiratorias por bacilo de la influenza en niños de dos meses a tres años de edad causan intenso edema y crean un *síndrome obstructivo* que con frecuencia causa la muerte en cuatro a doce horas. De ordinario los organismos se pueden clasificar directamente por la reacción de Quellung en el moco extraído de la faringe. Los estreptococos y estafilococos causan también este síndrome obstructivo en los niños.

La *endocarditis bacteriana* subaguda puede ser producida tanto por *H. influenzae* como por *H. parainfluenzae*.

Transmisión. Como cepas no capsuladas ni virulentas de *H. influenzae* se pueden aislar de la nasofaringe de muchos individuos normales, no se puede excluir la posibilidad de que tales cepas adquieran cápsulas y virulencia después de infecciones por virus, tales como el del resfriado común o el de la influenza. En ocasiones, los individuos normales alojan organismos virulentos y cabe suponer que estas cepas virulentas están pasando constantemente de hombre a hombre. Como sólo hay un tipo "b" que es una causa neta de enfermedad, la inmunidad resultante de las infecciones clínicas o subclínicas debe ser una protección más eficaz que la que cabría esperar después de una infección con un solo tipo de neumococo. Estos dos factores pueden explicar la relativa poca frecuencia, en adultos, de las infecciones por bacilos de la influenza, excepto en epidemias de influenza por virus, cuando la resistencia de los pacientes a muchas infecciones bacterianas está disminuída.

La inmunidad de la población general para las infecciones con *H. influenzae* ha sido investigada por Fothergill y Wright (1933). Estos autores comprobaron que la sangre desfibrinada de la mayor parte de los adultos posee gran poder bactericida para cepas virulentas de *H. influenzae*. La sangre de los niños recién nacidos posee también una actividad bactericida considerable que desaparece seis semanas después del nacimiento. Después de los tres años de edad, un número creciente de niños presentan substancias bactericidas en su sangre, lo cual permite deducir la gradual adquisición de inmunidad activa por infecciones subclínicas.

Productos biológicos. Se han producido sueros antibacterianos para *H. influenzae* en caballos y conejos. El suero de conejo parece superior; se ha valorado en unidades de nitrógeno del anticuerpo.

Se han inmunizado conejos con *H. influenzae* de tipos *a, b, c, d, e* y *f*; estos sueros se han utilizado para identificar los tipos específicos por la reacción de Quellung (Alexander, 1939). Se ha preparado un polisacárido purificado de *H. influenzae* tipo *b*, para *cutirreacciones*, con el fin de determinar la presencia de un exceso de anticuerpos circulantes. Se inyecta intradérmicamente 0,1 c.c. de una dilución de 1:5 000 del polisacárido específico; no se observa reacción si hay polisacáridos libres en los tejidos. Si hay un exceso de anticuerpos, dentro de los treinta minutos aparece una zona de eritema que rodea a una pápula central con seudópodos (Dingle y Seidman, 1941).

Tratamiento. Los casos de meningitis por *H. influenzae* se pueden curar con dosis adecuadas de sulfadiacina, pero el tratamiento debe ser continuado durante dos semanas para que transcurra el tiempo preciso para la producción de anticuerpos. Alexander prefiere tratar los casos moderadamente graves con sulfadiacina durante 24 horas antes de administrar suero de conejo inmune. La dosis de suero se determina por la disminución del azúcar en el líquido cefalorraquídeo, como se indica en las tablas siguientes. El suero se inyecta intravenosamente después de haber practicado una cutirreacción preliminar con suero normal de conejo diluído al 1:10, para determinar la presencia o ausencia de hipersensibilidad para él. El paciente hipersensible debe desensibilizarse antes de llevar a cabo la seroterapia. El método para la desensibilización se describe en el capítulo de la difteria. La administración intrarraquídea de suero suele ser innecesaria, pero si se estima aconsejable, debe ser retardada, si es posible, hasta 24 horas después de la primera dosis intravenosa. La combinación del polisacárido soluble en el líquido cefalorraquídeo y los anticuerpos puede originar una reacción que cause aumento en la congestión de las meninges; la producción de más exudado puede dar lugar a un bloqueo en la región del bulbo.

Si se sospecha un bloqueo parcial, MacPherson y colaboradores (1946), aconsejan inyectar 10 mg de heparina disuelta en un c.c. antes de poner el suero intrarraquídeamente.

PRUEBA CUALITATIVA PARA ESTIMAR EL AZÚCAR EN MILIGRAMOS POR 100 C.C. EN EL LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

NÚMERO DEL TUBO	C.C. DE L.C.R.	REDUCCIÓN DE LA SOLUCIÓN DE BENEDICT					
1	0,05	+	0	0	0	0	0
2	0,1	+	+	0	0	0	0
3	0,15	+	+	+	0	0	0
4	0,2	+	+	+	+	0	0
5	0,25	+	+	+	+	+	0
mg % de azúcar		más de 50	40 a 50	30 a 40	20 a 30	10 a 20	< 10

+ = Reducción de la solución de Benedict.
0 = No reducción de la solución de Benedict.
(Según Alexander, H. E., Ellis, C., y Leidy, G., *J. Pediat.*, 1942, 20:673.)

CUADRO DE DOSIFICACIÓN BASADO EN EL AZÚCAR DEL LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

AZÚCAR EN EL LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO (mg × 100 c.c.)	mg DE NITRÓGENO DE ANTICUERPO INDICADOS
< 15	100
15 a 25	75
25 a 40	50
Mayor 40	25

(Según Alexander, H. E., Ellis, C., y Leidy, G., *J. Pediat.*, 1942, 20:673.)

La enfermedad del suero se desarrolla con frecuencia de siete a diez días después de haber administrado el suero. En algunos casos, una "reacción sérica" en las meninges va seguida de meningitis aséptica leve que simula un ataque recurrente de meningitis infecciosa.

El tratamiento combinado con sulfadiacina y sueros específicos de conejo ha disminuído la mortalidad de la meningitis por influenza del 98 al 26 por ciento (Alexander y colaboradores, 1942).

La estreptomicina parece ser tan eficaz en todos los tipos de infección por *H. influenzae* como lo es la combinación de sulfonamidas y suero inmune (Durant y colaboradores, 1946; Keefer, 1946; Weinstein, 1946; Birmingham y colaboradores, 1946; Alexander y Leidy, 1947a; Vivino y colaboradores, 1947). En casos de meningitis, la estreptomicina debe administrarse tanto intrarraquídea como subcutáneamente. En algunos casos han ocurrido infecciones secundarias con *Staphylococcus aureus* en las meninges durante el tratamiento por estreptomicina. Alexander y Leidy (1947b) han demostrado que se pueden producir cepas estreptomicinorresistentes mientras el paciente está recibiendo el tratamiento, pero por fortuna las cepas resistentes suelen ser sensibles a la sulfadiacina.

Los niños jóvenes con infecciones respiratorias y síndrome obstructivo requieren con frecuencia una traqueotomía inmediata y tratamiento precoz con sulfadiacina y suero. Tal vez la estreptomicina resultara eficaz, puesto que Durant y colaboradores (1946) han publicado la curación con estreptomicina de tres casos de neumonía grave por *H. influenzae* en adultos.

Prevención. A los niños recién nacidos y menores de tres años no se les debe permitir tener contacto íntimo con niños mayores y adultos afectos de catarros nasales u otras infecciones respiratorias. La inmunización activa de los niños pequeños sería deseable, pero vista la poca frecuencia de la infección, la inmunización colectiva no parece ser práctica en la actualidad.

EL BACILO DE KOCH-WEEKS Y LA CONJUNTIVITIS CONTAGIOSA

El pequeño bacilo *gramnegativo* fué encontrado en Egipto en los frotis de ojos infectados, por Koch en 1883; y en 1887 fué aislado en cultivo puro por Weeks, de Nueva York. Fildes (1923) publicó que se necesitaban para el aislamiento ambos factores X y V, y Knorr (1925) creyó que este organismo era idéntico a *H. influenzae*. Estamos poco dispuestos a aceptar esta conclusión porque, según los datos epidemiológicos, el organismo es altamente infeccioso y específico y causa epidemias frecuentes y extensas en niños escolares, sin producción de neumonía, septicemia o meningitis. Un nuevo estudio del organismo con los métodos más modernos revelaría posiblemente diferencias específicas que permitirían separarlo de manera más precisa de *H. influenzae*.

Miterstein y Stern (1945) publicaron resultados excelentes en el tratamiento de esta infección por la administración bucal de sulfonamidas. Se observaron pruebas de degeneración de los bacilos vistos en los cultivos a las seis horas de administrada la primera dosis. El tratamiento debe ser continuado durante 7 a 10 días después de la curación aparente.

HEMOPHILUS SUIS E INFLUENZA EN LOS CERDOS

La influenza porcina fué reconocida como entidad clínica en 1918. Shope, en 1931, demostró que la enfermedad era producida por el ataque combinado de un virus y un bacilo. El virus demostró ser de influenza, relacionado antigénicamente con los virus causantes de la influenza humana, si no igual a ellos. El bacilo pequeño *gramnegativo* era absolutamente similar a *H. influenzae*, por cuanto requería para su aislamiento los factores X y V, pero *H. suis* difería en que no fermentaba los carbohidratos ni producía indol.

La infección en los cerdos semeja la influenza clínica en el hombre, con morbilidad muy alta y mortalidad relativamente baja.

Para producir la infección, tanto el virus como la bacteria tienen que ser inoculados por vía intranasal. Los cultivos puros de bacilo no causaban la infección cuando se introducían en las vías nasales del cerdo; no se podía demostrar inmunidad a la combinación del virus y el microorganismo por dosis estimulantes. El virus aisladamente sólo producía una enfermedad febril sumamente débil que daba inmunidad contra las infecciones tanto espontáneas como experimentales.

HEMOPHILUS CANIS

Este pequeño bacilo *gramnegativo* fué aislado por Friedberger en 1903 del prepucio inflamado de perros, y por Rivers (1922), Kirchenbauer (1934) y otros autores, de las secreciones prepuciales de perros normales. El organismo parece ser

parásito, pero no patógeno para el perro. El factor X debe suministrarse en el medio, pero el bacilo puede sintetizar el factor V. Fermenta la glucosa, la sacarosa y la manita, produce indol y reduce los nitratos.

Khairat (1940) aisló un bacilo hemófilo semejante a *H. canis* de un caso de endocarditis humana.

HEMOPHILUS PARAINFLUENZAE

Infecciones clínicas. Este pequeño bacilo *gramnegativo* requiere el factor V, pero no el X; ha sido utilizado para el ensayo microbiológico de las codehidrogenasas (Kohn y Bernheim, 1939) en sangre y tejidos. Algunas cepas producen indol; hay variedades *hemolíticas* y *no hemolíticas*. Las cepas hemolíticas han sido aisladas de faringitis; sus colonias se confunden fácilmente con las de estreptococos hemolíticos. Ambos tipos, hemolítico y no hemolítico, pueden producir endocarditis bacteriana subaguda (Miles y Gray, 1938; Craven, Poston y Orgain, 1940).

BIBLIOGRAFIA

Alexander, H. E. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1939, 40:313.
——— and Leidy, G. *J. Exper. M.*, 1947(a), 85:329, 607.
——— Leidy, G., and MacPherson, C. *J. Immunol.*, 1946, 54:207.
——— *Am. J. Med.*, 1947(b), 2:457.
——— Ellis, C., and Leidy, G. *J. Pediat.*, 1942, 20:673.
——— and Heidelberger, M. *J. Exper. M.*, 1940, 71:1.
Alexander, H. E., and Leidy, G. *J. Pediat.*, 1943, 23:640.
Birmingham, J. R., Kaye, R., and Smith, M. H. D. *J. Pediat.*, 1946, 29:1.
Blake, F. G., and Cecil, R. L. *J. Exper. M.*, 1920, 32:691, 719.
Brown, J. H. *Johns Hopkins Hosp. Bull.*, 1926, 38:147.
Chandler, C. A., Fothergill, L. D., and Dingle, J. H. *J. Exper. M.*, 1937, 66:789.
——— *J. Bacteriol.*, 1939, 37:415.
Craven, E. B., Poston, M. A., and Orgain, E. S. *Am. Heart J.*, 1940, 19:434.
Dingle, J. H., and Seidman, L. R. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1941, 46:34.
Dochez, A. R., Mills, K. C., and Kneeland, Y., Jr. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1932, 30:314.
Durant, T. M., Sokalchuk, A. J., Norris, C. M., and Brown, C. L. *J.A.M.A.*, 1946, 131:194.
Ehrich, W. E., Bondi, A., Mudd, S., and Flosdorf, E. W. *Am. J. Med. Sci.*, 1942, 204:530.
Eldering, G. *Am. J. Hyg.*, 1942, 36:294.
——— and Kendrick, P. *J. Bacteriol.*, 1937, 33:71; 1938, 35:561.
Evans, D. G. *Lancet*, 1942, 1:529.
Fildes, P. *Brit. J. Exper. Path.*, 1920, 1:129; 1921, 2:16; 1922, 3:210; 1923, 4:265; 1924, 5:69.
Fothergill, L. D. *New Eng. J. Med.*, 1937, 216:587.
——— and Wright, J. *J. Immunol.*, 1933, 24:273.
Grassberger, R. *Ztschr. f. Hyg.*, 1897, 25:453.
Keefer, C. *J.A.M.A.*, 1946, 132:4.
Khairat, O. *J. Path. & Bacteriol.*, 1940, 50:497.
Kirchenbauer, H. *Ztschr. f. Infektkr. Haustiere*, 1934, 45:273.
Knorr, M. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1925, 51:65.
Kohn, H. I., and Bernheim, F. W. *Clin. Invest.*, 1939, 18:585.
Kristensen, M. *Haemoglobinophilic Bacteria*, Copenhagen, 1922.
Levinthal, W. *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr.*, 1918, 86:1.
Lwoff, A., and Lwoff, M. *Proc. Roy. Soc.*, 1937, sB. 122:352, 360.
——— *Ann. Inst. Pasteur*, 1937, 59:129.
——— *Compt. rend. Acad. d. Sc.*, 1937, 204:1510.
MacPherson, C. F. C., Heidelberger, M., Alexander, H. E., and Leidy, G. *J. Immunol.*, 1946, 52:207.
Miles, A. A., and Gray, J. *J. Path. & Bacteriol.*, 1938, 47:257.
Miterstein, B., and Stern, H. J. *Lancet*, 1945, 1:649.
Neal, J. B. *J.A.M.A.*, 1924, 82:1429.
Parker, J. T. *J.A.M.A.*, 1919, 72:476.
Pittman, M. *J. Exper. M.*, 1931, 53:471.
Platt, A. E. *J. Hyg.*, 1937, 37:98.
——— *Aust. J. Exper. Biol. Med. Sci.*, 1939, 17:19.
Pritchett, I. W., and Stillman, E. G. *J. Exper. M.*, 1919, 29:259.
Rivers, T. M. *Am. J. Dis. Child.*, 1922, 24:102.

——— *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1919, 30:129; 1920, 31:50; 75:1495.
——— *J. Bacteriol.*, 1922, 7:579.
——— *J. Exper. M.*, 1927, 45:993.
——— and BAYNE-JONES, S. *J. Exper. M.*, 1923, 37:131.
——— and KOHN, L. A. *J. Exper. M.*, 1921, 34:477.
——— and POOLE, A. K. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1921, 32:202.
——— and VALENTINE, E. *J. Exper. M.*, 1927, 45:993.
SMITH, M. M. *J. Hyg.*, 1931, 31:321.
SHOPE, R. E. *J. Exper. M.*, 1931, 54:349, 373; 1935, 62:561; 1936, 64:47, 791.
SILVERTHORNE, N., CAMERON, C., and PATERSON, M. *Canad. J. Pub. Health*, 1943, 34:175, 178.
VIVINO, J. J., HIRSH, H. L., and DOWLING, H. F. *Southern Med. J.*, 1947, 40:751.
WEINSTEIN, L. *New Eng. J. Med.*, 1946, 235:101.
WOLLSTEIN, M. *J. Exper. M.*, 1919, 30:555.
——— *J. Exper. M.*, 1905, 7:335; 1911, 14:73; 1915, 22:445.

CAPITULO XXIII

HEMOPHILUS PERTUSSIS Y TOS FERINA. HEMOPHILUS DUCREYI Y CHANCRO BLANDO

Familia: *Parvobacteriaceae* Rahn. Grupo: *Hemophileae* Winslow y col. Género: *Hemophilus* Winslow y col. Especie: *Hemophilus pertussis* Holland

HEMOPHILUS PERTUSSIS

Durante el año de 1941, en Estados Unidos la tos ferina causó la muerte de 3 668 niños menores de cinco años de edad. Durante el mismo año la influenza se registró como causa de la muerte de 4 312 niños del mismo grupo de edad. Como el diagnóstico clínico de influenza con frecuencia es difícil, probablemente muchas de las muertes atribuídas a la influenza incluyeron infecciones específicas estreptocócicas y neumocócicas. Sin embargo, el diagnóstico clínico de la tos ferina es bastante seguro y, en los Estados Unidos, incuestionablemente es la causa principal de muerte por enfermedad infecciosa durante los cinco primeros años de la vida.

La importancia de la tos ferina como causa de muerte en la infancia se ilustra por las mortalidades relativas de tos ferina, sarampión, difteria, poliomielitis y escarlatina presentadas en la figura 52.

En 1900, Bordet y Gengou observaron bacilos pequeños ovoides en frotis teñidos del esputo de un niño afectado de tos ferina. Jochmann y Krause (1901) denominaron al organismo *Bacillus pertussis* y en 1906 Bordet y Gengou lograron cultivarlo. La posibilidad de que la tos ferina fuera causada por un virus o tuviera relación con él había sido sugerida de tiempo en tiempo (McCordock, 1932-33), pero los estudios completos de Madsen (1924-37), Kristensen (1933) y otros autores del Instituto Nacional de Sueros en Copenhaguen y las investigaciones posteriores en Estados Unidos demostraron en forma definitiva que *H. pertussis* es el agente de la tos ferina. En verdad MacDonald y MacDonald (1933) produjeron la tos ferina en dos niños por inoculaciones intranasales de cultivos puros y no lograron infectar dos testigos que habían sido previamente inmunizados con una vacuna hecha de *H. pertussis*.

Los estudios de Madsen señalaron que la infección se disemina por los niños que se hallan en estado catarral precoz de la enfermedad, por pacientes con infecciones atípicas o no diagnosticadas y por convalecientes recientes. Se ha demostrado por el método de la placa tosida, creado por Chievitz y Meyer en 1916, que el 75 al 90 por ciento de niños expelen *H. pertussis* en el aire, no solamente durante el período catarral de la infección, sino hasta el final de la cuarta semana de la enfermedad (Madsen, 1937; Leslie y Gardner, 1931; Sauer, 1933; Silverthorne y Fraser, 1935). Pocos, si acaso algunos, individuos normales, albergan *H. pertussis* en su nasofaringe.

Morfología y tinción. *H. pertussis* es un bastón pequeño ovoide, que mide de 0,3 a 0,5 μ de ancho y de 1,0 a 1,5 μ de largo. En los cortes teñidos se encuentran formas menores de 0,2 a 0,3 μ en acúmulos entre los cilios del epitelio bronquial. En

los frotis de secreciones nasofaríngeas o de esputo, los organismos suelen presentarse aislados, en ocasiones en grumos o racimos. Son muy similares morfológicamente a la forma cocobacilar de *H. influenzae*. Las formas filamentosas y en cadena casi nunca se ven en los exudados; rara vez, en los cultivos (fig. 53).

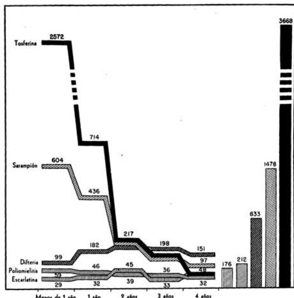


FIG. 52. MORTALIDAD RELATIVA DE LAS ENFERMEDADES DE LA INFANCIA.
(*Squibb Memoranda*, 1945. Con autorización de E. R. Squibb & Sons.)

Los organismos son *inmóviles* y *no esporulados*, pero pueden tener una *cápsula* en los exudados y aislados en medios convenientes.

Los bacilos se pueden teñir por azul de metileno alcalino, fucsina fenicada diluída o azul de toluidina carbonatada en cinco a diez minutos. *H. pertussis* es *gramnegativo* y en ocasiones presenta coloración bipolar.

Caracteres de cultivo. El medio de elección para aislar *H. pertussis* es el agar-sangre-patata glicerinado original de Bordet y Gengou. El material se puede recoger de la nasofaringe con una escobilla de alambre curvada preparada especialmente; el paciente también puede toser directamente sobre una placa de Bordet-Gengou. En estas placas pueden aparecer colonias apenas visibles a simple vista después de 24

horas, que aumentan lentamente hasta tamaño máximo después de una incubación de 48 a 72 horas. Las colonias son lisas, brillantes, algo convexas y de bordes enteros. Son más opacas que las colonias de *H. influenzae* y tienen color grisáceo que recuerda una perla cortada. Alrededor de la colonia se desarrolla una zona "borrosa" característica de *hemólisis*.

En *caldo* que contiene los factores X y V el desarrollo es uniformemente turbio; en cultivos de organismos que han sufrido variación, puede aparecer un sedimento viscoso.

Después del aislamiento, los subcultivos en serie sobre medios que contengan cantidades decrecientes de sangre permiten obtener el desarrollo en medios desprovistos de ella, demostrándose así que el organismo puede finalmente prescindir de los factores de desarrollo X y V. Tales cepas, sin embargo, pierden por completo su virulencia durante el proceso. El ácido nicotínico siempre es requerido para el desarrollo (Hornibrook, 1940).

H. pertussis es *aerobio*. Se desarrolla a 37° C., pero se multiplica lentamente a temperaturas más bajas. *No fermenta los carbohidratos; no reduce los nitratos ni produce indol.* El medio de sangre se vuelve alcalino.

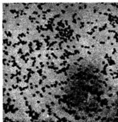


FIG. 53. HEMOPHILUS PERTUSSIS.

Organismos de cultivo de cuarenta y ocho horas en medio de Bordet-Gengou.

Resistencia. *H. pertussis* muere rápidamente por desecación, por los antisépticos comunes y por calentamiento durante treinta minutos a 55° C. El organismo es resistente a la acción de las *sulfonamidas* y *penicilina*, pero la mayor parte de las cepas son sensibles a la *estreptomicina*; es inhibido en concentraciones de 1,25 a 240 microgramos por c.c. de cultivo líquido.

Variabilidad. La historia de los intentos para producir una vacuna eficaz contra la tos ferina, proporciona un ejemplo excelente, no sólo de la importancia de la variación bacteriana, sino también de la necesidad de mantener una vigilancia constante sobre la estructura antigénica de los organismos empleados para la producción de vacunas. Durante muchos años en Dinamarca se ha logrado una protección excelente por inmunización con vacunas pertussis, mientras que intentos similares en los Estados Unidos fracasaron de manera constante. Las investigaciones subsiguientes han demostrado que la discrepancia en los resultados estriba en que los laboratorios daneses mantenían sus cultivos en la fase virulenta por subcultivo de los organismos en medios de patata-sangre-glicerina. Los americanos, por otra parte, preparaban sus vacunas de cultivos desarrollados sobre agar simple, medio en el cual solamente pueden prosperar los organismos avirulentos en fase de variación.

Las cepas recién aisladas de *H. pertussis* son capsuladas y forman la colonia típica ya descrita (Lawson, 1933). En 1931, Leslie y Gardner demostraron que había cuatro fases de variación descritas como tipos I, II, III y IV. En general, las colonias en fase III y IV eran mayores, más rugosas, y tenían el centro denso y elevado. En los frotis de las colonias rugosas se veían a veces filamentos largos semejando micelios. Las alteraciones más importantes que acompañaban a la transformación S → R eran las asociadas con alteraciones de estructura antigénica. Los animales inmunizados con vacunas en fase IV no presentaban resistencia a las dosis desencadenantes de *H. pertussis* en fase I.

Metabolitos bacterianos. En las fases intermedias, sobre todo avirulentas, de *H. pertussis*, se produce gran cantidad de materiales mucilaginosos que se acumulan en los cilios de la tráquea. Se piensa que el *entretejido* de estos cilios es factor importante que contribuye a la tos violenta y al *gallo* inspiratorio característico.

Endotoxinas. Las pruebas de la existencia de una endotoxina no son muy convincentes ya que las *toxinas* de los primeros investigadores contenían probablemente cantidades apreciables de la exotoxina. Smolens y Flavell (1947) extrajeron una toxina de los bacilos en fase I por desintegración sónica. Este producto, denominado endotoxina por ser extraído de las células bacterianas rotas, presentaba muchas características de una exotoxina, tal su toxicidad (1 000 DL_{50} por c.c.), su conversión en un toxoide antígeno y su neutralización por la antitoxina.

Exotoxinas. Algunos investigadores han estudiado una exotoxina termolábil que es antigénica en estado natural o después de cambiada a toxoide por tratamiento con formol (Teissier y colaboradores, 1929; Lawson, 1933; Strean y Grant, 1940; Evans, 1940; Flosdorf, 1941; Roberts y Ospeck, 1942-44). Roberts y Ospeck encontraron que las mayores cantidades de toxina se obtienen de cepas seleccionadas en fases intermedias de desarrollo. La exotoxina tenía acción *dermonecrótica* cuando se inyectaba intradérmicamente en conejos y era *letal* para estos animales al ser inyectada intravenosamente. La inmunización activa con el toxoide o la inmunización pasiva con la endotoxina neutralizaba los efectos de la toxina. La acción de la toxina sobre los pulmones de los conejos ha sido estudiada por Ehrich y colaboradores (1942) y por Sprunt y Martin (1943). Estos últimos comprobaron que la toxina producía una reacción edematosa grave seguida por acumulación característica de macrófagos en los alvéolos y de linfocitos en las regiones perivasculares; zonas dispersas de los pulmones presentaban necrosis graves con leucocitosis polimorfonuclear. El cuadro histológico era similar al encontrado en los pulmones de los niños muertos de tos ferina. La administración intravenosa de antitoxina 24 horas antes de la inyección intratraqueal de toxina modificaba de manera apreciable o completa los efectos de ésta.

La muerte de los ratones que recibían exotoxina pertussis podía ser prevenida por la antitoxina, pero no con el suero antibacteriano. Inversamente, cuando los ratones eran infectados por vía intranasal con *H. pertussis*, el suero antibacteriano era terapéuticamente eficaz, pero la antitoxina no evitaba la infección (Anderson y North, 1943; Evans, 1944).

Strean y Grant (1940) extrajeron una *toxina* de los cuerpos de *H. pertussis* y prepararon una *antitoxina*. Evans (1940) comprobó que esta antitoxina neutralizaba igualmente bien las toxinas producidas en los cultivos de *H. pertussis*, *H. parapertussis* y *H. bronchisepticus*.

Estructura antigénica. Los cultivos recién aislados de *H. pertussis* son capsulados y antigénicamente homólogos; son muchas las cepas aglutinables por un antisuero preparado contra cualquier cepa virulenta. Como el organismo varía desde la fase I hasta la IV, hay una pérdida gradual de virulencia que se acompaña de cambios netos en la estructura antigénica. Flosdorf, Dozois y Kimball * propusieron los tipos antigénicos de *H. pertussis* que exponemos a continuación, determinados por pruebas de aglutinación.

Las aglutinaciones cruzadas con *H. parapertussis* y *H. bronchisepticus* indican que estos organismos también tienen fases diversas, algunas de las cuales contienen antígenos idénticos a los de *H. pertussis*, mientras que otros son completamente diferentes (Eldering y Kendrick, 1938; Flosdorf y colaboradores, 1942-43).

* Flosdorf, E. W., Dozois, T. F., y Kimball, A. C., *J. Bact.*, 1941, 41:457.

SENCILLA ESTRUCTURA DE AGLUTINÓGENO SUGERIDA PARA EL H. PERTUSSIS

FASE	ANTÍGENOS MAYORES	ANTÍGENOS MENORES
I	*a*	*b, c*
III	*b*	*c o d*
IV	*c, d.*	

La *fracción polisacárida* de Cruickshank y Freeman (1937) y Eldering (1942) era antigénica y tóxica para los animales normales; de aquí que probablemente contenía algo de exotoxina y algo de aglutinógeno no tóxico, así como el polisacárido. Que sepamos, no hay estudios de polisacáridos purificados de *H. pertussis*.

Flosdorf y sus colaboradores (1940-43) y Smolens y Mudd (1943) aislaron un aglutinógeno de superficie por extracción ácida de los organismos íntegros y por extracción de los residuos de gérmenes lisados por vibraciones sónicas. Este aglutinógeno no daba reacción cuando se inyectaba intradérmicamente en la piel de conejos normales o en la de niños que no habían tenido la tos ferina. Los conejos inmunizados y los niños restablecidos de la tos ferina dieron reacción cutánea papulosa que duró unas 24 horas. Excelentes títulos de aglutininas se obtuvieron en conejos en respuesta a la inyección de este aglutinógeno (Smolens y Mudd, 1943).

Parfentjev y colaboradores (1947) aislaron una *núcleoproteína* que no era tóxica para los animales ni causaba reacción cuando se inyectaba intradérmicamente en conejos normales. Cuando esta núcleoproteína se inyectaba repetidamente en ratones, cobayos y conejos, los animales producían precipitinas específicas para ella, pero los sueros no contenían aglutininas para *H. pertussis*. Los animales se hicieron *alérgicos* a la núcleoproteína y la reinyección de estos animales les ocasionaba la muerte con síntomas de *anafilaxia*. Esta hipersensibilidad podía ser transferida pasivamente inyectando los sueros en la piel de otros conejos. A los ratones sensibilizados con vacuna de *H. pertussis* se les podía provocar el choque anafiláctico con núcleoproteínas de *Brucella abortus* y *H. bronchisepticus*.

Se ha demostrado la presencia de hipersensibilidad cutánea tanto para la núcleoproteína como para el aglutinógeno, pero queda por investigar la significación de la hipersensibilidad en la patogenia de la tos ferina.

Aunque los pacientes con tos ferina producen aglutininas y anticuerpos fijadores del complemento, no aparecen bastante pronto en la enfermedad o en concentraciones suficientemente altas para que tengan valor diagnóstico.

Enfermedad experimental en los animales de laboratorio. Rich y colaboradores (1936) produjeron tos paroxística y linfocitosis en chimpancés con cultivos puros de *H. pertussis*. Sprunt, Martin y McDearman (1938) observaron la producción de linfocitosis con neumonía mononuclear intersticial después de las inyecciones intratraqueales de organismos virulentos en fase I.

La inoculación de embriones de pollo dió lugar a una proliferación de los organismos en la mucosa ciliada de la tráquea, bronquios y esófago (Gallavan y Goodpasture, 1937).

Se requieren muy grandes dosis de *H. pertussis* para producir la muerte en conejos y cobayos.

Los ratones anestesiados pueden ser infectados por instilaciones intranasales de *H. pertussis*.

La inyección intraperitoneal de organismos junto con almidón (Powell y Jamieson, 1936) o mucina (Silverthorne, 1938) produce una infección obligadamente mortal. La prueba de virulencia más precisa es la que emplea la técnica de inoculación intracerebral introducida por Kendrick y colaboradores en 1947. Las

pruebas de protección empleando esta técnica serán de gran valor para estimar el grado de inmunidad producido en los niños después de la inyección de diversos tipos de vacunas y toxoides pertussis.

Infección clínica en el hombre. *H. pertussis* se desarrolla en el espesor y en la superficie de las mucosas del aparato respiratorio. Después de un período de incubación de 7 a 14 días empieza el estado catarral con coriza, estornudos y tos ligera. En este tiempo los organismos en fase I se presentan en abundancia; la formación de cuerpos inmunes puede tener cierta acción para forzar los organismos a variar a las fases II y III, menos virulentas, fases que el trabajo del laboratorio ha señalado como importantes en la producción de toxina.

El síndrome catarral dura alrededor de 10 a 14 días y va seguido por la fase *espasmódica* que se caracteriza por un tipo violento de tos de repetición que fuerza al aire fuera de los pulmones y va seguido de un *gallo* o *silbido* inspiratorio forzado y repentino. El estado espasmódico dura unas dos semanas. Aparecen zonas localizadas de necrosis en el epitelio bronquial y en los pulmones pueden observarse placas de edema y neumonía intersticial. Las secreciones bronquiales, mucilaginosas, espesas y viscosas son aspiradas con gran dificultad, lo cual probablemente explica la intensidad de la tos. Toomey y Takacs (1937) han aislado organismos avirulentos en este período de la enfermedad; en los cultivos, producen grandes cantidades de material mucilaginoso. Por este tiempo el paciente ha desarrollado también un estado de *hipersensibilidad* para las proteínas de *H. pertussis*.

El período de *convalecencia* suele durar hasta dos semanas, pero puede ser mucho más largo. En cualquier momento después del comienzo del período catarral, el paciente puede desarrollar un tipo grave de neumonía, por *H. pertussis* o por otros organismos presentes en las vías respiratorias. Un ataque de tos ferina puede ir seguido de infecciones crónicas de los pulmones, como bronquitis crónica, bronquiectasias, neumonía organizada y asma bronquial, pero estas complicaciones resultan de infecciones secundarias.

Transmisión. Como se ha mencionado, probablemente no hay portadores de *H. pertussis*. Ciertamente, la mayor parte de los pacientes tienen una historia de contacto íntimo con un individuo en período catarral de la enfermedad. La proporción de transmisibilidad (85 por ciento) es casi tan alta como la del sarampión y la varicela.

La tos ferina es esporádica en todas las áreas densamente pobladas del mundo; las epidemias ocurren cada dos a cinco años o siempre que se acumula suficiente número de individuos susceptibles. Ocurren casos durante todo el año, pero los Estados del norte de Estados Unidos tienen la frecuencia mayor en enero y febrero; en los Estados del sur el máximo se alcanza en mayo.

La mortalidad es tan alta en los negros como en los blancos y es mayor en las niñas que en los niños (Vaughan). El factor aislado más importante de mortalidad es la edad; cuanto más joven es el niño más grave es la enfermedad (fig. 52).

Un ataque de tos ferina, suele proteger para toda la vida. Los cuerpos inmunes aparecen en la sangre durante la convalecencia, pero desaparecen lentamente después de unos meses. En algunos individuos la reacción alérgica cutánea papular persiste durante meses o años. Una cutirreacción positiva consecutiva a inyección intradérmica del aglutinógeno hace reaparecer aglutininas en la sangre (Smolens y Mudd, 1943). En la sangre de más del 50 por ciento de las mujeres embarazadas se encuentran cantidades apreciables de opsonina (Kendrick y colaboradores, 1945) y la transmisión trasplacentaria de cuerpos inmunes es probablemente un factor importante en la protección de los niños durante los dos primeros meses de vida.

Productos biológicos. Existe en el comercio un suero de conejo antibacteriano para inmunización pasiva de los niños pequeños expuestos a la tos ferina. En algunas ciudades se recoge suero humano hiperinmune para transmitir pasivamente la inmunidad (Felton, 1945).

Se han preparado diversos tipos de antígeno para inmunización activa de los niños contra la tos ferina. Algunas son vacunas hechas con todo el germen (Sauer, 1933); otras contienen los antígenos de células bacterianas disgregadas mecánicamente (Krueger y colaboradores, 1932); otros, un toxoide hecho con la exotoxina. Algunas de las mezclas contienen alumbre. Estos productos están siendo vueltos a valorar en número de unidades protectoras del ratón provocadas por su inyección al hombre.

Tratamiento. En los niños mayores la tos ferina es molesta, pero, por lo general, no constituye enfermedad peligrosa, a menos que se complique con neumonía secundaria. La penicilina no es eficaz, pero parece ser que las sulfonamidas ejercen cierta acción inhibidora del desarrollo (Bradford y colaboradores, 1944). La estreptomicina inhibe el desarrollo de algunas cepas de *H. pertussis* y debe ser ensayada en combinación con la sulfadiacina en los niños con infecciones graves. También debe administrarse penicilina para evitar las infecciones secundarias con cocos piógenos.

Los sueros humanos hiperinmunes y de convaleciente o los sueros antitóxicos o antibacterianos de conejo son eficaces si se administran muy al comienzo de la enfermedad (Felton, 1945).

Prevención. Debe tenerse escrupuloso cuidado en proteger a los niños menores de cinco años de edad del contacto con enfermos de tos ferina.

La inmunización activa es eficaz para proteger a los niños de la tos ferina en el 70 a 90 por ciento de los casos; la mayor parte de los que adquieren la enfermedad después de inmunizados sólo sufren infecciones leves o de intensidad moderada (Felton y colaboradores, 1944; Cravitz y Cauley, 1945). Como la mortalidad más alta se presenta en los niños de menos de un año de edad, estamos de acuerdo con Sako y sus colaboradores (1945) en que deben hacerse las inmunizaciones en el tercer mes de la vida, aunque la inmunidad producida no sea tan buena como la obtenida cuando la inmunización se retrasa hasta el séptimo mes. Los inmunizados precozmente pueden necesitar una dosis reactivadora después de seis meses.

Según Kendrick y colaboradores (1945), las mujeres embarazadas deberían ser inmunizadas o hiperinmunizadas por una serie de inyecciones de vacuna pertussis, con el fin de aumentar la cantidad de anticuerpos que transfieren pasivamente al niño.

Se está progresando en la obtención de antígenos combinados de modo que el niño pueda ser inmunizado para la difteria, tétanos y tos ferina con una sola serie de inyecciones (Kendrick, 1943; Hamilton y Knouf, 1944).

HEMOPHILUS PARAPERTUSSIS

Este organismo fué aislado de casos clínicos de tos ferina por Eldering y Kendrick en 1937. Es un bacilo *inmóvil, gramnegativo* semejante a *H. pertussis*, pero que desarrolla colonias mayores y produce un pigmento moreno en medios que contienen sangre. No requiere para desarrollarse los factores X y V, pero produce catalasa. Tiene antígenos somáticos que dan reacciones cruzadas con *H. pertussis* y *H. bronchisepticus* (Flosdorf y colaboradores, 1941).

HEMOPHILUS BRONCHISEPTICUS

H. bronchisepticus, sinónimo de *Bacillus bronchisepticus* y *Brucella bronchisepticus,* fué aislado en 1911 por Ferry, en los Estados Unidos, y por M'Gowan, en Edimburgo, de perros enfermos de moquillo. En el moquillo, el organismo es un invasor secundario, pero es también causa común de infecciones esporádicas y de epidemias en conejos y cobayos. Los ratones no son susceptibles. Es *aerobio* estricto y no requiere para el desarrollo los factores X y V. Se aisla fácilmente en placas de agar-sangre y se desarrolla en agar con caldo de carne sin adición de sangre.

Las colonias son pequeñas, redondas y convexas, con superficie lisa y brillante. El organismo es *gramnegativo, no esporulado,* pero en contraste con los otros miembros del grupo *Hemophilus* es *móvil.* Algunas cepas son *hemolíticas.* Produce catalasa; con frecuencia reduce los nitratos pero *no fermenta ningún carbohidrato.*

Se han encontrado antígenos comunes a *H. pertussis, H. parapertussis* y *Brucella abortus* (Eldering y Kendrick, 1938); Flosdorf y colaboradores, 1941; Parfentjev y colaboradores, 1947). Una antitoxina preparada contra la exotoxina formolada de *H. pertussis* neutraliza la toxina de *H. pertussis,* de *H. parapertussis* y de *H. bronchisepticus* (Evans, 1942).

Estamos de acuerdo con Topley y Wilson en incluir este organismo en el grupo *Hemophilus,* aun cuando sea móvil, no solamente por los antígenos y toxinas comunes, sino por el tipo de enfermedad respiratoria producida en los animales y por su capacidad para originar en ocasiones, en el hombre, un síndrome de tos espasmódica (Brown, 1926).

MORAXELLA LACUNATA

Familia: *Parvobacteriaceae* Rahn. Grupo: *Hemophileae* Winslow y colaboradores. Género: *Moraxella* Lwoff. Especie: *Moraxella lacunata* (Eyre) Lwoff

En 1896, Morax describió un diplobacilo que consideró productor de un tipo de conjuntivitis crónica a la cual dió el nombre de *conjonctivite subaiguë.* Algo después, fué encontrado un microorganismo similar por Axenfeld (1897), en casos que correspondían a los de Morax. La afección que de manera característica producían estos microorganismos es una conjuntivitis catarral, casi siempre de ambos ojos. La inflamación es especialmente manifiesta en los ángulos del ojo, más intensa a nivel de la carúncula. Rara vez hay mucha inflamación de la conjuntiva y casi nunca ulceraciones. La enfermedad sigue un curso subagudo o crónico. El diagnóstico se establece con facilidad por los frotis del pus, que se forma con especial abundancia durante la noche.



FIG. 54. DIPLOBACILO DE MORAX-AXENFELD.

Morfología y tinción. En los frotis del pus, los microorganismos aparecen como bacilos cortos y gruesos, generalmente a pares, colocados de extremo a extremo, a veces aislados en cadenas

cortas. Sus extremos son netamente redondos, sus centros algo abultados, dando al bacilo forma ovoide. Miden alrededor de dos micras de longitud (fig. 54).

Se tiñen fácilmente por los colorantes usuales de anilina y son *gramnegativos.*

Caracteres de cultivo. El bacilo de Morax-Axenfeld sólo se puede cultivar en medios alcalinos que contengan sangre o suero sanguíneo. Se desarrolla pobremente, o no se desarrolla en absoluto, a la temperatura de la habitación.

En *suero* de *Loeffler*, las colonias aparecen después de 24 a 36 horas como pequeñas muescas que indican la licuefacción del medio. Axenfeld afirma que con el tiempo todo el medio puede llegar a licuarse. En agar-suero se forman colonias delicadas, grisáceas, en forma de gota, que no difieren de las del gonococo.

En *caldo-líquido ascítico* se produce enturbiamiento general dentro de las 24 horas.

Poder patógeno. Los intentos para producir lesiones en los animales inferiores con este bacilo no han tenido éxito. Sin embargo, por inoculación a seres humanos se ha obtenido una conjuntivitis subaguda.

HEMOPHILUS DUCREYI

Familia: *Parvobacteriaceae* Rahn. Grupo: *Hemophileae* Winslow y col. Género: *Hemophilus* Winslow y col. Especie: *Hemophilus ducreyi* (Neveu-Lemaire) Bergey y col.

Hemophilus ducreyi es la causa del chancro blando o infección de los genitales. Aproximadamente el 10 por ciento de las infecciones venéreas son causadas por este organismo.

En 1889, Ducrey demostró la presencia de pequeños bacilos en la secreción purulenta de las lesiones y logró pasar la infección al antebrazo del paciente por inoculación directa. El organismo fué aislado en cultivo puro por Besançon, Griffon y Le Sourd, en 1890.

H. ducreyi es un parásito obligado del hombre; generalmente se transmite por contacto directo. En ocasiones, durante las manipulaciones quirúrgicas se puede transmitir indirectamente por medio de apósitos, paños o instrumentos.

Morfología y tinción. El bacilo de Ducrey es extremadamente pequeño, mide de 1,1 a 1,5 μ de longitud y de 0,5 a 0,6 μ de ancho. En los frotis de las lesiones el organismo aparece aislado en pequeños racimos; a veces se dispone en filas paralelas, como un banco de peces. Se encuentran formas extra e intracelulares. El organismo es *no esporulado* e *inmóvil.*

Cuando se tiñe con azul de metileno de Loeffler aparecen con frecuencia cuerpos polares de color más obscuro. El organismo es *gramnegativo.*

Caracteres de cultivo. Aunque *H. ducreyi* no requiere los factores X y V para el desarrollo, sólo se puede cultivar en medio muy rico. El material del fondo de las úlceras debe ser extendido en estrías sobre un medio de caldo de carne que contenga 3 por ciento de agar y por lo menos 20 a 33 por ciento de sangre de conejo desfibrinada. Tales cultivos se incuban entre 35° y 37° C. con tinción de oxígeno disminuído (Sanderson y Greenblatt, 1937). Después de una incubación de 24 horas aparecen pequeñas colonias, poco elevadas, convexas, blanco-grisáceas, lisas y brillantes, de bordes continuos.

Después de una incubación de 2 a 3 días las colonias miden de 1,5 a 2 mm de diámetro y pueden presentar una depresión en forma de cráter. El pus aspirado de un bubón no abierto suele dar cultivo puro; pero desgraciadamente el desarrollo se obtiene con menor frecuencia de los bubones que de las lesiones ulcerosas primarias (Heyman, Beeson y Sheldon, 1945).

El organismo se desarrolla bien en *caldo* si se le añade 20 por ciento de sangre de conejo desfibrinada. El mejor medio para conservar los cultivos se prepara con agar al 0,25 por ciento de caldo de carne, 1 por ciento de almidón y 20 por ciento de sangre de conejo desfibrinada. Después de una incubación preliminar de cinco días, los cultivos se mantienen vivos a la estufa o a la temperatura de la habitación durante 30 días.

Resistencia. *H. ducreyi* es un organismo delicado que muere a 55° C. en una hora. Se destruye rápidamente por la desecación y por los antisépticos corrientes. Las *sulfonamidas* son moderadamente eficaces, pero la *penicilina* no tiene efecto alguno sobre *H. ducreyi.*

La *estreptomicina* inhibe el desarrollo del organismo en concentraciones de uno a cinco microgramos por c.c. de medio de cultivo.

Estructura antigénica. Muy poco se sabe acerca de la estructura antigénica de *H. ducreyi.* La suspensión de organismos obtenidos de cultivos es aglutinada por los sueros específicos. El organismo contiene un antígeno que rápida e intensamente sensibiliza los tejidos de muchos pacientes. Las vacunas hechas a partir de cultivos dan cutirreacciones positivas cuando se inyectan intradérmicamente. Estas cutirreacciones aparecen después de 24 a 48 horas y persisten durante cuatro a cinco días. La hipersensibilidad, al parecer, es permanente en algunos, pero no en todos los pacientes. Heyman y colaboradores (1945) comprobaron que el 30 por ciento de 473 pacientes negros tenían cutirreacciones positivas, aunque ninguno de ellos había sufrido chancroide reciente. El hecho de que ni una cutirreacción positiva ni una negativa sean concluyentes limita el uso de este método para el diagnóstico.

Enfermedad experimental en los animales de laboratorio. La mayor parte de los animales de laboratorio resisten a la infección con *H. ducreyi.* Los monos han sido infectados. Feiner y Mortara, en 1945, lograron inocular conejos blancos utilizando cultivos, por las técnicas intradérmica y de multipresión. Las lesiones necróticas locales producidas por este método son semejantes a las lesiones chancroides en el hombre. Una inoculación primaria no protege a los conejos de la reinfección por el mismo método, pero se desarrolla en la piel sensibilidad alérgica a la vacuna, que persiste por lo menos tres meses.

Anderson y Snow (1940) cultivaron *H. ducreyi* en la membrana corioalantoidea del embrión de pollo.

Enfermedad clínica en el hombre. Tras un período de incubación de cuatro a diez días después de la exposición, aparece una pequeña pústula en los órganos genitales o cerca de ellos. La pústula está rodeada por una zona de enrojecimiento e induración que rápidamente se convierte en una úlcera necrótica de bordes irregulares. Difiere clínicamente del chancro sifilítico por la presencia de un enrojecimiento notable y de edema alrededor de la lesión y por la falta de induración. Estas características son reconocidas por el nombre de *chancro blando,* que a veces se aplica a la lesión. Con frecuencia se presentan varios chancros en el mismo paciente.

Después que se han producido infecciones secundarias, es difícil establecer el diagnóstico clínico. Los cultivos, las biopsias y aun una inoculación directa del pus en el antebrazo del paciente, pueden ser necesarios para establecer el diagnóstico. Las lesiones de inoculación tienen los mismos caracteres generales que las primitivas (Heyman y colaboradores, 1945). Los frotis son positivos en el 43 a 65 por ciento de los casos (Greenwald, 1943; Strakosch y colaboradores, 1945) y los cultivos en el 60 a 90 por ciento (Teague y Deibert, 1920; Heyman y colaboradores, 1945).

La infección suele originar inflamación de los ganglios linfáticos de la ingle, referidos comúnmente como *bubones,* que más tarde pueden dar lugar a abscesos.

Transmisión. El chancro blando se presenta en todo el mundo y prevalece particularmente entre los negros del sur de Estados Unidos. Constituyó un problema en las dos guerras mundiales. Satulsky (1945) publicó 1 555 casos habidos en un solo teatro de operaciones. El método de transmisión ya ha sido expuesto.

Productos biológicos. Se dispone de una vacuna comercial para cutirreacciones intradérmicas; se ha utilizado para la desensibilización en algunas infecciones chancroides crónicas.

Tratamiento. El tratamiento con sulfonamidas por vía bucal dió lugar a una reducción en el período medio de hospitalización desde 24,9 días observado en la primera Guerra Mundial a 11,2 días en la segunda (Satulsky, 1945). La estreptomicina debe ser ensayada en los casos que no responden a la terapéutica sulfamídica.

Prevención. La aplicación extensa de agua caliente y jabón abundantes es más eficaz para prevenir el chancro blando que cualquiera de los métodos de tipo más específico recomendados en la profilaxis de otras enfermedades venéreas.

BIBLIOGRAFIA

Anderson, G., and North, E. A. *Aust. J. Exper. Biol. & Med. Sci.*, 1943, 21:1.
Anderson, K., and Snow, J. S. *Am. J. Path.*, 1940, 16:269.
Axenfeld, T. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt., 1897, 21:1.
Besançon, F., Griffon, V., and Le Sourd, L. *Presse méd. Par.*, 1900, 2:385.
Bordet, J., and Gengou, O. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1906, 20:731; 1907, 21:720.
——— and Sleeswyck. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1910, 24:476.
Bradford, W. L., Brooks, A. M., and Katsampes, C. P. *Yale J. Biol. & Med.*, 1944, 16:435.
Brown, J. H. *Johns Hopkins Hosp. Bull.*, 1926, 38:147.
Chievitz, I., and Meyer, A. H. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1916, 30:503.
Cravitz, L., and Cauley, J. H. *J.A.M.A.*, 1945, 129:539.
Cruickshank, J. C., and Freeman, G. G. *Lancet*, 1937, 2:567.
Ducrey, A. *Monatsh. f. prokt. Dermat.*, 1889, 9:387.
Ehrich, W. E., Bondi, A., Mudd, S., and Flosdorf, E. W. *Am. J. Med. Sci.*, 1942, 204:530.
Eldering, G. *Am. J. Hyg.*, 1942, 36:294.
——— and Kendrich, P. *J. Bacteriol.*, 1938, 35:561.
Evans, D. G. *J. Path. & Bacteriol.*, 1940, 51:49.
——— *J. Path. & Bacteriol.*, 1944, 56:49.
——— *Lancet* 1942, I:529.
Feiner, R. R., and Mortara, F. *Am. J. Syph., Gonor. & Ven. Dis.*, 1945, 29:71.
Felton, H. M., and Willard, C. Y. *J.A.M.A.*, 1944, 126:294.
——— *J.A.M.A.*, 1945, 128:26.
Ferry, N. S. *J. Infect. Dis.*, 1911, 8:399.
Flosdorf, E. W., and Kimball, A. C. *J. Bacteriol.*, 1940, 39:255.
———, Bondi, A., and Dozois, T. F. *J. Immunol.*, 1941, 42:133.
———, Dozois, T. F., and Kimball, A. C. *J. Bacteriol.*, 1941, 41:457.
———, McGuinnes, A. C., Kimball, A. C., and Armstrong, J. G. *J. Pediat.*, 1941, 19:638.
———, Bondi, A., Felton, H., and McGuinness, A. C. *J. Pediat.*, 1942, 21:625.
——— *Am. J. Dis. Child.*, 1942, 64:43.
Flosdorf, E. W. *J. Pediat.*, 1943, 22:259.
Gallavan, M., and Goodpasture, E. W. *Am. J. Pathol.*, 1937, 13:927.
Greenwald, E. *J.A.M.A.*, 1943, 121:9.
Hamilton, P. M., and Knouf, E. G. *J. Pediat.*, 1944, 25:236.
Heyman, A., Beeson, P. B., and Sheldon, W. H. *J.A.M.A.*, 1945, 129:935.
Hornibrook, J. W. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1940, 45:598.
Jochmann, G., and Krause, P. *Ztschr. f. Hyg. Infectionskrankh.*, 1901, 36:193. Quoted from Hewlett, R. T., *System of Bacteriology in Relation in Medicine*, London, 1929, 2:395.
Kendrick, P. L. *Am. J. Hyg.*, 1943, 38:193.
———, Eldering, G., Dixon, M. K., and Misner, J. *Am. J. Pub. Health*, 1947, 37:803.
———, Thompson, M., and Eldering, G. *Am. J. Dis. Child.*, 1945, 70:25.
Kristensen, B. *J.A.M.A.*, 1923, 101:204.
Krueger, A. P., Nicholas, V. C., and Frawley, J. M. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1932-1933, 30:1097.
Lawson, G. McL. *Am. J. Dis. Child.*, 1933, 46:1454.
——— *Studies on Bacillus Pertussis.* Thesis, Harvard School of Public Health, July, 1932.
——— and Mueller, M. *J.A.M.A.*, 1927, 89:275.

LESLIE, P. H., and GARDNER, A. D. *J. Hyg.*, 1931, 31:423.
MACDONALD, H., and MACDONALD, E. J. *J. Infect. Dis.*, 1933, 53:328.
MADSEN, T. *Boston M. & S. J.*, 1924, 192:50; *J.A.M.A.*, 1933, 101:187.
—— *Whooping Cough.* The Abraham Flexner Lectures. Ser. 5, p. 172. Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1937.
M'GOWAN, J. P. *J. Path. & Bacteriol*, 1911, 15:372.
MCCORDOCK, H. A. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1932, 29:1288.
—— and MUCKENFUSS, R. S. *Am. J. Pathol.*, 1933, 9:221, 957.
MORAX, V. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1896, 10:337.
PARFENTJEV, I. A., GOODLINE, M. A., and VIRION, M. E. *J. Bacteriol.*, 1947, 53:597, 603, 613.
POWELL, H. M., and JAMIESON, W. A. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1936, 34:435.
RICH, A. R., LONG, P. H., BROWN, J. H., BLISS, E. A., and HOLT, L. E. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1936, 58:286.
ROBERTS, M. E., and OSPECK, A. G. *J. Infect. Dis.*, 1942, 71:264.
—— *J. Infect. Dis.*, 1944, 74:22.
SAKO, W., TREUTING, W. L., WITT, D. B., and NICHAMIN, S. J. *J. A. M. A.*, 1945, 127:379.
SANDERSON, E. S., and GREENBLATT, R. B. *South Med. J.*, 1937, 30:147.
SATULSKY, E. M. *J.A.M.A.*, 1945, 127:259.
SAUER, L. *J.A.M.A.*, 1933, 100:239; 1933, 101:1449.
SILVERTHORNE, N. *Canad. J. Pub. Health*, 1938, 29:233.
——, and FRASER, D. T. *Canad. Med. Ass. J.*, 1935, 32:367.
SMOLENS, J., and FLAVELL, E. H. *J. Immunol*, 1947, 57:173.
—— and MUDD, S. *J. Immunol.*, 1943, 47:155.
SPRUNT, D. H., and MARTIN, D. S. *Am. J. Path.*, 1943, 19:255.
——, and MCDEARMAN, S. *J. Exper. M.*, 1938, 67:309.
STRAKOSCH, E. A., KENDELL, H. W., CRAIG, R. M., and SCHWEMLEIN, G. X. *J. Invest. Dermat.*, 1945, 6:95.
STREAN, L. P., and GRANT, G. A. *Canad. M. Assoc. J.*, 1940, 43:528.
TEAGUE, O., and DEIBERT, O. *J. Urol.*, 1920, 4:543.
TEISSIER, P., REILLY, J., RIVALIER, E., and CHAMBESSEDES, H. *J. physiol. et de path., gén.*, 1929, 27:549.
TOOMEY, J. A. *J. Pediatrics*, 1937, 10:472.
—— and TAKACS, W. S. *J. Bacteriol.*, 1936, 31:44.
—— and TAKACS, W. S. *J. Infect. Dis.*, 1937, 60:41.
VAUGHAN, *Epidemiology*, volume on Respiratory Diseases.

CAPITULO XXIV

EL GRUPO NEISSERIA Y LA MENINGITIS CEREBROESPINAL EPIDEMICA

Los cocos gramnegativos que tienen relación con el hombre, con excepción de *N. gonorrhoeae*, son habitantes de la boca y las vías respiratorias superiores. *N. meningitidis* causa meningitis epidémica y endémica; *N. catarrhalis*, *N. flavescens* y *N. mucosa* se aislan ocasionalmente del líquido cefalorraquídeo en casos de meningitis crónica leve; otros miembros del grupo no son patógenos. La similitud morfológica entre los miembros del grupo y la presencia de proteína y carbohidratos somáticos comunes permite suponer que todos los cocos gramnegativos se originaron de un antecesor común.

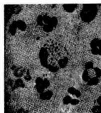


Fig. 55. Meningococos en líquido cefalorraquídeo.

Los organismos se presentan de manera característica en parejas con los ejes longitudinales de las células ovales paralelas a la línea de división; hay aplanamiento visible de los lados adyacentes de los organismos que constituyen cada par. En los cultivos puros, sin embargo, solamente unos pocos tendrán esta disposición morfológica característica (figs. 55, 56). Los organismos aislados son claramente ovales; una pareja también puede parecer oval si, al hacer el frotis, uno de los organismos viene a quedar en tal posición que cubra al otro.

Hay algunas irregularidades en el comportamiento de los organismos para tomar el colorante. Con frecuencia se presentan gránulos metacromáticos y se ven formas grampositivas, especialmente en el centro de un racimo. En el momento de la decoloración, se requiere mucho mayor cuidado que en la tinción de otros organismos gramnegativos.

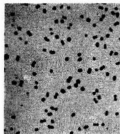


Fig. 56. Meningococo.

Organismos de cultivo de veinticuatro horas × 2000.

La clasificación de este grupo de organismos se ha hecho según las fermentaciones de carbohidratos, como se indica en la tabla siguiente. Para lograr la fermentación con *N. meningitidis* y *N. gonorrhoeae* debe añadirse al medio suero humano o de conejo y hacer una siembra voluminosa.

La producción de ácido por la bacteria se puede determinar incorporando un indicador apropiado al medio, que puede ser líquido o sólido.

Reacciones de fermentación de los diplococos gramnegativos

Organismo	Glucosa	Maltosa	Levulosa	Sacarosa	Lactosa	Galactosa
N. catarrhalis	0	0	0	0	0	0
N. flavescens	0	0	0	0	0	0
N. gonorrhoeae	+	0	0	0	0	0
N. meningitidis	+	+	0	0	0	0
N. flava III	+	+	0	0	0	0
N. flava II	+	+	+	0	0	0
N. flava I	+	+	+	+	0	0
N. sicca	+	+	+	+	0	0
N. mucosa	+	+	+	+	+	+

(Modificado de Elser y Huntoon, *J. Med. Research*, 1909, 20:369.)

NEISSERIA MENINGITIDIS

Familia: *Neisseriaceae* Prévot. Género: *Neisseria* Trevisan. Especie: *Neisseria meningitidis* (Albrecht y Gohn) Holland

Neisseria meningitidis es de gran importancia en medicina por su tendencia a causar *epidemias* explosivas y dramáticas de *meningitis cerebroespinal*. La meningitis meningocócica se presenta esporádicamente durante los períodos interepidémicos, pero las cifras de morbilidad anual permanecen algo constantes y, en general, no son muy diferentes de las de las meningitis causadas por neumococos, estreptococos, *Hemophilus influenzae* y bacilo tuberculoso (Hertzog, 1945).

La mortalidad en casos esporádicos suele ser algo más baja, pero varía grandemente en las diferentes localidades de un año a otro. Antes de la introducción de las sulfonamidas, la mortalidad de las infecciones esporádicas y epidémicas era muy variable, en algunos casos tan alta como del 90 por ciento y en otros hasta del 20 por ciento. El promedio de mortalidad global viene a ser del 70 por ciento.

Durante una epidemia, en más del 50 por ciento de los casos de meningitis meningocócica se presentan manchas purpúreas, pero se ven menos comúnmente en las infecciones interepidémicas. En la literatura europea y americana más antigua tales casos fueron con frecuencia catalogados como "fiebre pintada" y no deberán ser confundidas con la rickettsiosis llamada "fiebre pintada de las Montañas Rocosas".

Marchiafava y Celli, en 1884, tiñeron los diplococos en los exudados meníngeos de pacientes con meningitis. Estos autores describieron la morfología de las bacterias, señalaron que la mayor parte de los organismos eran intracelulares y observaron el parecido de estos organismos con *Neisseria gonorrhoeae*. Sin embargo, no pudieron cultivar el organismo. En 1887, Weichselbaum aisló *N. meningitidis* de seis casos de meningitis cerebroespinal epidémica.

El hombre es el único huésped natural de *N. meningitidis*. Los organismos viven en la nasofaringe de individuos aparentemente sanos y pasan de hombre a hombre como los neumococos.

Morfología y tinción. Los frotis del líquido cefalorraquídeo de pacientes infectados muestran los diplococos intra y extracelulares característicos (fig. 55), generalmente en pares, pero a veces en tétradas o aun en agregados mayores. En los primeros períodos de la enfermedad muchos de los organismos se encuentran fuera de las células. Ambas formas, intra y extracelulares, están aplanadas en sus lados contiguos y semejan pares de granos de café (fig. 55). Hay considerable variación en el tamaño de las diferentes parejas de cocos, más perceptibles todavía en los cultivos. Se encuentran cocos con dos a tres veces el diámetro medio de una micra,

especialmente en cultivos de 24 horas. *N. meningitidis* es *inmóvil* y *no esporulado*. La mayor parte de las cepas aisladas de los grupos I y II, tipo *a*, tienen *cápsulas*.

El organismo se tiñe fácilmente con los colorantes de anilina y, por lo general, presenta gránulos metacromáticos cuando se tiñe con azul de metileno de Löffler o con el colorante de Neisser. Es *gramnegativo*, pero con frecuencia retienen el colorante azul cuando los frotis gruesos de líquido cefalorraquídeo se decoloran incompletamente. Los cultivos deben ser hechos pocos minutos después de recoger el líquido cefalorraquídeo ya que los organismos pueden sufrir autólisis y desaparecer.

Caracteres de cultivo. Debe emplearse un medio rico si se desea obtener un número máximo de cultivos positivos tanto de pacientes como de portadores. Para el mejor aislamiento suelen escogerse el agar-chocolate o agar-sangre de conejo con caldo de carne. El desarrollo de los organismos aumenta perceptiblemente por incubación del cultivo en una atmósfera que contenga el 10 por ciento de anhídrido carbónico (Wherry y Oliver, 1916; Morton, 1945).

Los meningococos son tan sensibles al enfriamiento o la desecación que se deben emplear medios templados al hacer los cultivos y los tubos deben ser incubados en seguida.

En una amplia investigación de la frecuencia de *portadores* de meningococo, Phair y Schoenbach (1944) usaron un medio base de agar al que se añadió 5 por ciento de sangre desfibrinada de conejo, 0,5 por ciento de glucosa, 5 mg por ciento de ácido paraminobenzoico y una mezcla de sales muy parecida a la de la solución de Ringer. Algunos investigadores prefieren el medio de almidón-caseína hidrolizada de Mueller e Hinton (1941) o el medio de digestión tríptica de Boor (1942).

Franz (1942) comprobó que los cultivos de laboratorio de *N. meningitidis* podían desarrollarse en un medio sintético compuesto de ácido glutámico, glucosa y sales minerales. Grossowicz (1945) cultivó el organismo en una mezcla de glucosa o lactato, glutamato, tiosulfato y sales minerales. El lactato se desdobla en ácido acético, pero en ausencia de tiamina el ácido pirúvico se acumula por fermentación de la glucosa.

N. meningitidis es *aerobio* y se desarrolla mejor a un pH de 7,4 a 7,6 a 37° C., aunque el crecimiento puede tener lugar entre los límites de 25° a 42° C.

Después de una incubación de 24 horas en medio adecuado aparecen colonias lisas, húmedas, elevadas, de color gris azulado. Son algo mayores que las de neumococos, menos opacas que las de estafilococos y no tienen acción sobre los glóbulos rojos del medio. La autólisis se produce ya durante el desarrollo de las colonias, explicando el aspecto de los cocos hinchados y pobremente teñidos de los frotis. Fermenta la *glucosa* y la *maltosa* con producción de *ácido*. Las colonias de meningococo dan la reacción característica de las oxidasas por aplicación de una solución de tetrametil-*p*-fenilendiamina, pero la reacción no diferencia los meningococos de los gonococos y otros miembros del grupo *Neisseria*.

Resistencia. Los meningococos son organismos muy delicados; mueren en 24 horas por desecación o exposición a la luz solar. El calentamiento a 50° C. o la acción de los antisépticos corrientes muy diluídos destruye rápidamente los organismos. Los subcultivos mueren después de incubación de tres a cuatro días en agar-sangre; deben ser trasplantados con frecuencia. Durante la segunda Guerra Mundial, Levine y Thomas (1947) idearon un dispositivo para el desarrollo y un medio de mantenimiento que aseguraba la viabilidad de los organismos durante cinco a ocho semanas. La liofilización, efectuada poco tiempo después del aislamiento, es el mejor método para conservar los organismos en su fase lisa virulenta.

Los meningococos son muy sensibles tanto a las *sulfonamidas* como a la *penicilina*. La *estreptomicina* inhibe el desarrollo del organismo en concentraciones de 2 a 7,5 microgramos por c.c. de medio de cultivo. Son muchas las cepas que resisten a cada uno de los tres agentes terapéuticos (Miller y Bohnhoff, 1945),

Variabilidad. Los meningococos recién aislados de los grupos I y II, tipo *a*, son capsulados y tienen la forma de colonia típica descrita arriba. Los organismos del grupo II no suelen ser capsulados; las colonias son más pequeñas, más rugosas y pueden desarrollar un tinte amarillento. Las colonias de los organismos virulentos forman rápidamente papilas sobre su superficie y los subcultivos de estas papilas se desarrollan como organismos avirulentos disociados.

Miller y Bohnhoff (1946) han aislado dos tipos de variantes por desarrollo de los meningococos en medios que contienen 0,07 g de estreptomicina por c.c. Una variante puede ser cultivada en un medio usual libre de estreptomicina; los subcultivos resultan virulentos y resistentes a la estreptomicina. La variante del segundo tipo, sin embargo, no se puede subcultivar en medios libres de estreptomicina. Se comprobó más tarde que la *estreptomicina había llegado a ser un factor esencial de desarrollo* para estos organismos. Esta variante era incapaz de infectar los cobayos, a menos que los animales estuvieran recibiendo grandes dosis de estreptomicina, en cuyo caso los organismos producían una infección mortal.

Metabolitos bacterianos. Los organismos capsulados de los grupos I y II, tipo *a*, producen cada uno un polisacárido específico que difunde por los tejidos. Este polisacárido no es tóxico y neutraliza los anticuerpos (Petrie, 1932; Kirkbride y Cohen, 1934).

Exotoxina. En 1931, Ferry, Norton y Steele describieron una toxina que obtuvieron de cultivos en caldo de meningococos virulentos jóvenes. La toxina resistía el calor a 80° C. durante treinta minutos, pero era destruída por ebullición. Los filtrados eran antigénicos; cuando se inyectaban los animales producían anticuerpor neutralizantes que Ferry consideró como antitoxina (Ferry y Schornack, 1934).

Endotoxina. En 1901, Albrecht y Ghon comprobaron que el filtrado de caldos de cultivo no tenía efecto sobre los ratones, pero que la inyección intraperitoneal de organismos muertos (por calentamiento durante una hora a 65° C.) causaba la muerte de los ratones con síntomas y lesiones anatomopatológicas similares a los encontrados después de la inyección de organismos vivos. Esta endotoxina fué estudiada en detalle por Flexner en 1907. La fracción proteínica denominada "P", aislada por Rake y Scherp (1933), se comprobó que era muy tóxica para los animales; ello explicaba probablemente la mayor parte, si no todos los efectos producidos por la endotoxina.

Zinsser, Kuttner y Parker, en 1920, aislaron de cultivos frescos de meningococos en caldo una substancia "X" que causa síntomas agudos en conejos una hora después de la inyección intravenosa. Esta substancia no era específica ni antigénica y se podía obtener de cierto número de otros organismos.

Fenómeno de Shwartzman. En 1929, Shwartzman demostró un factor necropurpurógeno en los meningococos. Los filtrados de meningococos contenían menos agentes preparantes que agentes desencadenantes. Black-Schaffer, Hiebert y Kerby, en 1947, hicieron un estudio comparativo de ocho cepas de *N. meningitidis* aisladas de pacientes con lesiones cutáneas purpúreas características y diez cepas de pacientes que no tenían lesiones cutáneas demostrables. Aunque las substancias de Shwartzman fueron producidas por todas las cepas, independientemente del origen, en general los filtrados más potentes fueron los de cultivos obtenidos de pacientes con manchas purpúreas. Se observó la variación ordinaria en la sensibilidad

de diferentes conejos a la inyección de cantidades idénticas de los mismos filtrados. No había relación entre el tipo antigénico del meningococo y su capacidad para producir púrpura en los conejos. Los resultados experimentales justificaron su conclusión conservadora, en el sentido de que la púrpura meningocócica es más fácil que ocurra por infección fortuita con una cepa purpurógena en un individuo con sensibilidad manifiesta para las substancias de Shwartzman.

Una proporción pequeña de los pacientes con meningococemia purpúrea presentó hemorragias y necrosis de las glándulas suprarrenales; acabaron en colapso y muerte con los síntomas característicos del síndrome de Waterhouse-Friderichsen (Wright y Reppert, 1946). En dos conejos de las series estudiadas por Black-Schaffer y colaboradores, se encontraron lesiones suprarrenales.

Estructura antigénica. Los primeros intentos de Dopter, de Nicolle, Debains y Jouan, de Griffith y Scott, de Gordon y Murray, de Evans y de Rake para clasificar los meningococos por sus antígenos fueron revisados en detalle por Branham en 1940.

El conocimiento creciente de la formación capsular y el significado del fenómeno de la variación permitieron establecer una clasificación simple de los meningococos en grupos I, II y grupo II tipo *a* (Branham, 1940). La validez de esta clasificación fué rápidamente demostrada durante las extensas investigaciones llevadas a cabo durante la segunda Guerra Mundial. El estudio de unas 1 500 cepas de *N. meningitidis* aisladas de casos de meningitis clínica, clasificadas en el laboratorio central de la Comisión sobre meningitis meningocócica, demostró que el 91,6 por ciento pertenecían al grupo I, el 1,6 por ciento al grupo II y 5,6 por ciento al grupo II tipo *a;* solamente el 0,2 por ciento quedaron sin clasificar (Phair y Schoenbach, 1944).

Los grupos antes mencionados fueron establecidos por técnicas de aglutinación y de absorción de aglutininas. Rake y Scherp (1933) aislaron la sal sódica de un polisacárido ácido de los meningococos grupo I. La substancia específica en el grupo II parece ser un complejo polisacárido-polipéptico (Menzel y Rake, 1942). El grupo II, tipo *a*, tiene un polisacárido capsular diferente del encontrado en el grupo I (Branham y Carlin, 1942). Hay un carbohidrato o substancia "C" común a todos los meningococos y que se halla en algunas otras bacterias, y una substancia proteínica "P" que se encuentra en los meningococos, gonococos y neumococos de tipo III (Rake y Scherp, 1933).

La presencia de los polisacáridos puede ser demostrada por precipitinorreacciones o por la hinchazón de la cápsula con el antisuero específico (Clapp y colaboradores, 1935; Branham, 1940). Un método ingenioso para demostrar la producción de polisacáridos específicos por las colonias de meningococos, fué ideado en 1932 por Petrie, quien añadió suero inmune homólogo al medio de agar antes de sembrar las placas. Conforme los organismos desarrollan los polisacáridos que difunden en el medio, se precipitan por el suero específico y forman un halo alrededor de las colonias.

Si se usa la aglutinación para identificar los cultivos, es importante emplear solamente antisueros preparados por inmunización de los animales con cepas capsuladas. Tales sueros contienen anticuerpos específicos para el polisacárido capsular o para el complejo capsular proteína-polisacárido. Cuando se utilizan para la inmunización cepas no capsuladas, o también cuando el período de inmunización con cepas capsuladas es prolongado, aparecen aglutininas somáticas, las cuales dan reacciones cruzadas con los diversos tipos de meningococos y también con otras especies de *Neisseria*. Las reacciones cruzadas se acrecientan por incubación de

los tubos a 56° C. durante una noche, mejor que por un período más corto de tiempo a 37° C. (Little, 1938; Branham, 1940).

Mayer y Dowling (1945) describieron una técnica de aglutinación en la cual se usó la centrifugación para forzar el contacto entre los organismos. Se mezclan en los tubos, de la manera corriente, los cocos y las diferentes diluciones de sueros; los tubos se centrifugan a 2 000 r. p. m. durante diez minutos y se leen, inmediatamente después de agitar para disgregar los grupos del fondo de los tubos. Aunque por este método los títulos son muy bajos, los autores encontraron que las reacciones eran muy específicas y se eliminaban las reacciones cruzadas ocasionadas por aglutininas somáticas. Falk y Appelbaum (1945) compararon los métodos establecidos con la técnica por centrifugación, pero prefirieron los primeros. La reacción de fijación del complemento se puede emplear, pero suele ser menos específica por exposición a los antígenos somáticos de los organismos durante la preparación del antígeno.

Enfermedad experimental en los animales de laboratorio. Von Lingelsheim (1906) y Flexner (1907) reprodujeron la meningitis meningocócica en monos por inyecciones intrarraquídeas de cultivos de gérmenes recién aislados.

La inyección intravenosa de ratones, cobayos y conejos con grandes dosis de organismos suele causar la muerte con un cuadro de tipo toxémico más bien que de infección progresiva. La inoculación intrapleural de ratones y cobayos con grandes dosis de organismos causa infección local y la muerte en unos tres días con síntomas de toxemia. En conejos, la inyección intracisternal de cultivos virulentos recién aislados da lugar a cuadros clínicos bastante típicos de meningitis aguda y subaguda (Branham y Lillie, 1932; Zdrodovsky y Voronina, 1932).

Buddingh y Polk (1939) produjeron lesiones hemorrágicas y septicemia en pollos de doce días después de inocularles cultivos de *N. meningitidis.*

Algunas cepas de meningococos poseen virulencia suficiente para matar a los ratones por inyección intraperitoneal de 100 000 organismos, pero otras requieren dosis tan grandes que en muchos casos es difícil determinar si los animales mueren de la infección o de la intoxicación con endotoxina. Sin embargo, si los meningococos van suspendidos en *mucina* y son inyectados intraperitonealmente, con un número tan bajo como dos a diez organismos de una cepa de alta virulencia basta para producir infección mortal de los ratones (Miller, 1933-35). Se pueden conservar cepas de meningococos en su virulencia máxima por pasos repetidos en ratones. El uso de mucina ha resultado muy útil al permitir lograr la enfermedad experimental en los ratones; así ha sido posible estudiar y valorar los efectos terapéuticos de las sulfonamidas, la penicilina y la estreptomicina.

Tipos clínicos de enfermedad en el hombre. El hombre se infecta por la nasofaringe y puede presentar una faringitis leve, eventualmente con dolor de cabeza, malestar, fiebre ligera, dolores articulares, dolores musculares y en ocasiones *meningismo.* Con la mayor frecuencia la infección por meningococos sólo da lugar a casos de faringitis leve o subclínica. Tales pacientes suelen restablecerse sin que la infección sea reconocida y probablemente quedan inmunes para ataques subsiguientes.

En infecciones progresivas el meningococo gana la entrada a las vías linfáticas y por vaciamiento en la sangre se inicia una bacteriemia que da lugar a la formación de lesiones en pulmones, articulaciones, oídos, ojos, piel, y particularmente en las *meninges.* Rara vez, si es que ocurre, se produce extensión directa de la nasofaringe a las meninges siguiendo las fibras nerviosas o los linfáticos perineurales. Estudios recientes no han permitido comprobar que la extracción del líquido cefa-

lorraquídeo por punción lumbar favorezca la localización del organismo en las meninges, como se había sostenido.

La invasión de la corriente sanguínea va seguida rápidamente por manifestaciones clínicas: escalofrío, fiebre, malestar, mialgias, dolor de cabeza intenso y meningitis. En un pequeño porcentaje de casos esporádicos se presentan manchas purpúreas, pero durante las epidemias las presentan la mayoría de los pacientes. De aquí el nombre de *fiebre pintada*. Las manchas purpúreas resultan de trombosis de los capilares o vasos subterminales de la piel seguida de extravasación de glóbulos rojos para producir pequeñas manchas rojas brillantes que, en doce a veinticuatro horas, llegan a ser obscuras, purpúreas y frecuentemente de color negro azulado. Los meningococos han sido demostrados en los frotis y se pueden cultivar en el período primero (rojo) de las lesiones purpúreas. Siempre se harán los hemocultivos antes de administrar a los pacientes sulfonamidas o penicilina. Black-Schaffer y colaboradores (1947) sostienen que las cepas de meningococos que producen cantidades considerables de substancias de Shwartzman ocasionan más frecuentemente lesiones purpúreas características.

En algunos casos, el cuadro clínico es el de la *meningococcemia crónica*. Los organismos, al parecer, invaden la sangre periódicamente y producen un pequeño número de manchas grandes durante semanas y aun meses. Tales pacientes se pueden curar, desarrollar el síndrome característico de la meningitis meningocócica o sufrir lesiones en las válvulas del corazón, acabando en endocarditis bacteriana.

La *endocarditis bacteriana* meningocócica puede ser causada por ambos grupos, I y II, de meningococos (Firestone, 1946).

La extracción precoz y el examen de una muestra de líquido cefalorraquídeo, antes de la administración de penicilina o sulfonamida, es esencial para un pronto y exacto diagnóstico de la meningitis meningocócica.

Cuando los típicos cocos gramnegativos se encuentran en número suficiente en los frotis del cefalorraquídeo, los organismos del grupo I y grupo II, tipo *a*, se pueden clasificar directamente por la reacción de *Quellung* usando sueros de conejos inmunizados. Los organismos del grupo II no dan esta reacción. Si no se ven organismos en el frotis directo, inoculando por vía intraperitoneal ratones con líquido cefalorraquídeo y mucina pueden obtenerse a las doce horas organismos suficientes para la clasificación (Beckler, 1945). Los cultivos suelen clasificarse por aglutinación. Los cocos gramnegativos que no son aglutinados, o que lo son en todos los sueros, probablemente son meningococos avirulentos en fase de variación u otros miembros del grupo *Neisseria*. Éstos generalmente pueden desarrollarse en agar simple; se identifican por la formación de colonias, su color y la fermentación de carbohidratos.

Las recaídas de la meningitis meningocócica son frecuentes; en ocasiones los pacientes pueden tener dos o más recidivas en un período de dos años (Weinstein y Stanley, 1946).

Las aglutininas aparecen en la sangre del paciente con títulos de 1:80 y 1:360 después de 5 a 15 días (Mayer y Dowling, 1945) y persisten durante 3 a 4 meses. Los anticuerpos fijadores del complemento aparecen durante la convalecencia (Branham, 1940; Falk y Appelbaum, 1945), pero ninguno de los anticuerpos lo hace suficientemente pronto para que tenga valor diagnóstico.

Productos biológicos. Los sueros antibacterianos y antitóxicos han sido usados rara vez desde la introducción de las sulfonamidas. No hay cutirreacción específica utilizable para determinar la susceptibilidad, la inmunidad o la alergia al meningococo.

Tratamiento. Flexner y Jobling (1908) produjeron un suero antibacteriano de caballo que era eficaz para reducir la proporción de casos mortales de un promedio de 70 por ciento a 30 por ciento. En los casos tratados antes del cuarto día de la enfermedad se obtuvo un porcentaje de casos mortales tan bajo como 18 por ciento. Tales sueros eran necesariamente polivalentes.

Todos los preparados de sulfonamidas son eficaces contra los meningococos, pero la sulfadiacina, a causa de su baja toxicidad, es la más empleada actualmente. Las sulfonamidas son mucho más eficaces que el suero y han disminuído el número de casos mortales al cinco por ciento aproximadamente (Schwenkter, Gelman y Long, 1937; Lohrey y Toomey, 1946; Goldbloom y colaboradores, 1946, y Kinsman y D'Alonzo, 1946).

Estos agentes quimioterápicos atraviesan rápidamente las meninges y alcanzan en cefalorraquídeo una concentración de 50 a 60 por ciento de la que se encuentra en la sangre. El poder de las sulfonamidas de pasar a través de las meninges intactas probablemente también les permite penetrar profundamente en los exudados plásticos de las meninges. Esta capacidad de penetrar en el líquido cefalorraquídeo puede explicar la superioridad de las sulfonamidas sobre la penicilina. Los meningococos pueden adquirir resistencia a las sulfonamidas en poco tiempo.

La *penicilina* es tan eficaz como las sulfonamidas para eliminar los organismos de la corriente sanguínea. Los antibióticos filtran con dificultad a través de las meninges, si bien algunos casos iniciales han sido curados solamente con penicilina por vía parenteral. En la mayor parte de los casos son necesarias inyecciones intrarraquídeas diarias como método suplementario. En enfermos graves teóricamente hay ventaja en usar ambas, sulfonamidas y penicilina, porque los meningococos desarrollan resistencia a la penicilina mucho más difícilmente que a las sulfonamidas.

La *estreptomicina* no es tan útil como las sulfonamidas y la penicilina, excepto quizá sobre organismos resistentes a uno o a ambos de estos agentes terapéuticos. Es frecuente hallar cepas resistentes a la estreptomicina; pueden seleccionarse a voluntad sobre medios artificiales (Miller y Bohnhoff, 1946).

Transmisión. La pauta epidemiológica para la meningitis meningocócica es muy compleja. En los períodos interepidémicos los casos esporádicos ocurren principalmente en niños, al igual que ocurre con las infecciones por *H. influenzae.* En una serie de 3 557 casos, el 27 por ciento eran niños de menos de cinco años de edad y el 45 por ciento eran de menos de quince (Beeson y Westerman, 1943). En las epidemias que ocurren cada cinco a diez años, las infecciones más graves se presentan en los adultos, especialmente entre los soldados. Una vez empezada, la enfermedad se propaga rápidamente a la población civil. El porcentaje de atacados entre los expuestos es muy bajo, casi tan bajo como el de la poliomielitis. Los casos aislados en familias son la regla más bien que la excepción, pero se han publicado casos múltiples en una familia con muchos niños (Rotondo y Handelman, 1945) y se ha propuesto la administración profiláctica de sulfadiacina a las personas expuestas al contagio. Los doctores, enfermeros y asistentes a los pabellones destinados a pacientes con meningitis, sólo contraen la enfermedad en raras ocasiones, pero por lo regular dan una frecuencia de portadores mucho más alta (36,7 por ciento) que el promedio de la población (4 por ciento). Si bien alrededor del 38 por ciento de los convalecientes pueden seguir siendo portadores por períodos de tiempo variables, es difícil atribuir el desarrollo de nuevos casos a un paciente, un convaleciente o incluso un portador conocido (Mathers y Herrold, 1918). La proporción de portadores normales es alrededor del 4,5 por ciento. La mayor parte de los portadores son temporales e intermitentes, como en el caso de los neumococos,

pero 1 a 2 por ciento de los individuos pueden alojar la misma cepa durante meses o años.

La proporción de portadores aumenta en los meses de invierno, coincidiendo con el aumento de atacados. Durante la primera Guerra Mundial, Glover (1918) encontró una relación entre el porcentaje de portadores y el grado de hacinamiento impuesto a los soldados en las barracas. Las medidas sanitarias, incluyendo la separación de las camas y alternando las cabeceras y pies de las mismas, tuvo por resultado una caída considerable en la proporción de portadores y una disminución coincidente de los casos de meningitis. Los resultados de tales estudios durante la primera Guerra Mundial fueron de un valor definitivo para reducir la frecuencia de meningitis y otras infecciones respiratorias en la segunda Guerra Mundial.

Los tipos de meningococos alojados en la nasofaringe varían algo en los períodos interepidémicos y endémicos. En un período interepidémico, Laybourn (1931) encontró que los meningococos de grupo II eran los más frecuentes en los portadores y en los pacientes con meningitis. Durante un período epidémico en la segunda Guerra Mundial, Phair y Schoenbach (1944) encontraron una proporción media de portadores del 40 por ciento con el 92,2 por ciento de los hombres que albergaban meningococos en uno u otro momento durante un período de diez semanas. Se encontró que los tres tipos estaban presentes en proporción aproximadamente igual, pero todos los casos clínicos desarrollados durante este período fueron causados por organismos pertenecientes al grupo I.

Todavía no se sabe por qué los soldados desarrollan meningitis epidémicas, aunque probablemente hayan estado expuestos desde la infancia a un medio en el cual los organismos estaban presentes de manera constante. No podemos plantear esta cuestión, pero mencionaremos algunos de los factores contribuyentes, como: 1) concentración en una pequeña zona de cierto número de individuos susceptibles previamente aislados; 2) rápida transferencia de los meningococos de individuo a individuo, por cuanto la proporción de portadores aumenta; 3) posible aumento en la dosis, virulencia y poder de invasión de ciertas cepas. La inmunidad básica del individuo es la llave del problema, puesto que las epidemias sólo ocurren en los reclutas y soldados en períodos de entrenamiento y no en divisiones aclimatadas.

Prevención. El intento de aislar a los portadores como medio de prevenir la meningitis epidémica no es práctico, a causa de su gran número. La descentralización de masas de individuos probablemente resultaría útil si pudiera efectuarse.

Dos o tres días de tratamiento profiláctico con dosis relativamente pequeñas (1 a 2 g) de sulfadiacina aplicado a todo el personal, elimina los organismos de la nasofaringe de los portadores y ha podido detener una epidemia (Kuhns y colaboradores, 1943; Phair y Schoenbach, 1944). Deben evitarse los períodos prolongados de tratamiento en masa para prevenir el desarrollo de cepas sulfonamidorresistentes.

OTROS MICROCOCOS GRAMNEGATIVOS

Neisseria catarrhalis. Es un diplococo descrito por R. Pfeiffer, quien lo encontró en el esputo de pacientes que sufrían inflamación catarral de las vías respiratorias superiores. Más tarde fué estudiado con atención por Ghon y H. Pfeiffer (1902). Según estos autores, la significación patógena del micrococo es pequeña, si bien ocasionalmente puede ser considerado como el factor causal en las inflamaciones catarrales. Su principal importancia estriba, sin embargo, en su similitud con el meningococo y el gonococo, de ninguno de los cuales se puede distinguir morfoló-

gicamente. Es *gramnegativo*, aparece con frecuencia en forma de diplococos y tiene tendencia, en los exudados, a situarse intracelularmente. A semejanza de los dos microorganismos mencionados, es poco patógeno para los animales.

La diferenciación del gonococo es extraordinariamente simple, por cuanto *N. catarrhalis* se desarrolla fácilmente sobre medios de cultivo simple y no muestra ninguno de los requerimientos culturales estrictos del gonococo.

La diferenciación del meningococo es menos sencilla; como ambos microorganismos se hallan en la nariz, es de gran importancia. La distinción entre los dos se hace por los caracteres de cultivo y las reacciones de aglutinación. Desde el punto de vista del cultivo, *N. catarrhalis* se desarrolla más fácilmente que el meningococo sobre los medios ordinarios de cultivo. Las colonias de *N. catarrhalis* son groseramente granulares y blancas, en contraste con las colonias grisáceas y finamente granulares del meningococo. *N. catarrhalis* se desarrolla a temperaturas inferiores a 20° C., mientras que el meningococo no se desarrolla por debajo de 25° C. No es difícil distinguir estos organismos entre sí.

Neisseria flava. Este habitante común de la garganta normal crece fácilmente sobre medios simples y se puede desarrollar a temperatura de la habitación o por bajo de 25° C., temperatura a la cual el meningococo cesa de desarrollarse. Es siempre importante exponer los cultivos sospechosos a la temperatura de la habitación en la obscuridad.

Los cultivos forman un pigmento de color amarillento, pero con frecuencia no aparece por varios días. Las colonias muy jóvenes pueden parecerse estrechamente a las colonias del meningococo, pero se distinguen con facilidad en los subcultivos, especialmente cuando tienen 28 o más horas. Hay un número considerable de organismos cromógenos estrechamente relacionados con *N. flava*. Elser y Huntoon (1909) describen tres grupos cromógenos principales, uno de los cuales tiene aspecto gris verdoso o amarillo verdoso a la luz refleja, con opacidad parecida a la de la colonia de meningococos. El segundo grupo es el que más estrechamente semeja a *N. flava* de Lingelsheim.

Su tercer grupo cromógeno produce también un pigmento amarillo verdoso; excepto por ello, es muy similar a *N. catarrhalis*. Un hecho curioso es el observado por Elser y Huntoon, es decir, que algunos de esos organismos cromógenos eran fácilmente distinguibles de las colonias de meningococo en el primer aislamiento, pero en el curso del cultivo artificial perdían algunas de sus características originales y su poder para producir pigmento, y gradualmente se aproximaban al aspecto de los meningococos, por lo menos en cepas aisladas desde largo tiempo.

El grupo *flava* plantea quizá las mayores dificultades en el examen de los portadores de meningococo, ya que las colonias jóvenes de estos organismos pueden parecerse mucho a los cultivos jóvenes de meningococo. Los puntos principales de diferenciación, aparte de la fermentación de los azúcares, que los confirman, son: el hecho de que las colonias del grupo *flava* se desarrollan a la temperatura de la habitación o en medios simples inclinados; que éstas empiezan a formar pigmento después de 48 horas más o menos, y que aglutinan indistintamente en suero normal de caballo a diluciones tan altas como 1:50 y en los sueros meningocócicos, frecuentemente en diluciones tan altas como 1:100. Los meningococos no aglutinan espontáneamente en solución salina, salvo en las condiciones antes mencionadas, como ha observado Hine, y bajo la influencia de reacciones ácida o alcalina anormales. Por tanto, en todas las series en que se usa la aglutinación específica para determinar un meningococo, debe disponerse suero normal de caballo a diluciones de por lo menos 1:50 con miras a excluir los organismos del tipo *flava*.

Neisseria sicca. Este organismo, descrito por von Lingelsheim, es un diplococo *gramnegativo* que se encuentra con frecuencia en la faringe normal; se reconoce por sus colonias dentadas y secas en medios simples. Según Elser y Huntoon (1909), sedimenta espontáneamente en solución salina y ello, junto con el hecho de que las colonias casi son imposibles de disgregar, permite distinguirlas del meningococo. Es más difícil de distinguir de *N. catarrhalis*, pero ello puede lograrse fácilmente por las reacciones de fermentación.

Neisseria mucosa. La descripción de esta forma de diplococo *gramnegativo* está tomada de Elser y Huntoon (1909). Sus colonias pueden semejar las de meningococo sobre agar-líquido-ascítico. Se dice que difieren de las colonias de meningococos porque son más mucosas, semejando a las colonias de bacilo de Friedländer. Las colonias tienen una tendencia a confluir; el desarrollo lujuriante ayuda a distinguirlas de las de meningococo. Se desarrolla a la temperatura de la habitación y presenta cápsulas.

Neisseria flavescens. Durante una epidemia de meningitis en Chicago, Branham (1930) aisló *N. flavescens* del líquido cefalorraquídeo de cierto número de pacientes. Los organismos se desarrollaron pobremente sobre agar glucosado, pero muy bien sobre agar-sangre y agar semisólido. Se produjo en las colonias un pigmento amarillo dorado. Las diversas cepas eran homólogas, pero no aglutinaban en el suero antimeningocócico. *N. flavescens* no fermentaba los carbohidratos usuales.

BIBLIOGRAFIA

Albrecht and Ghon. *Wien. klin. Wchnschr.*, 1901, 14:984.
Beckler, E. A. *J. Lab. & Clin. Med.*, 1945, 30:745.
Beeson, P. B., and Westerman, E. *Brit. Med. J.*, 1943, 1:497.
Black-Schaffer, B., Hiebert, T. G., and Kerby, G. P. *Arch. Path.*, 1947, 43:28.
Boor, A. K. *Proc. Soc. Exper. Biol & Med.*, 1942, 50:22.
Branham, E. S. *U. S. Public. Health Rep.*, 1930, 45:1131.
——— *Bact. Rev.*, 1940, 4:59.
——— and Carlin, S. A. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1942, 49:141.
——— and Lillie, R. D. *Pub. Health Rep.*, 1932, 47:2137.
Buddingh, G. J., and Polk, A. D. *J. Exper. M.*, 1939, 70:485, 499.
Clapp, F. L., Phillips, S. W., and Stahl, H. J. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1935, 33:302.
Elser, W. J., and Huntoon, F. M. *J. Med. Research*, 1909, 20:369.
Falk, C. R., and Appelbaum, E. *J. Clin. Invest.*, 1945, 24:742.
Ferry, N. S., Norton, J. F., and Steele, A. H. *J. Immunol.*, 1931, 21:293.
——— and Schornack, P. J. *J. Immunol.*, 1934, 26:143.
Firestone, G. M. *Am. J. Med. Sci.*, 1946, 211:556.
Flexner, S. *J. Exper. M.*, 1907, 9:105, 142, 168; 1913, 17:553.
Flexner and Jobling. *J. Exper. M.*, 1908, 10:141, 690.
Frantz, I. D. *J. Bacteriol.*, 1942, 43:757.
Ghon and Pfeiffer, H. *Ztschr. f. klin. Med.*, 1902, 44:262.
Glover. *J. Hyg.*, Cambridge, 1918, 17:367.
Goldbloom, A. A., Nickman, E. H., and Seidmon, E. P. *Ann. Int. Med.*, 1946, 24:589.
Grossowicz, N. *J. Bacteriol.*, 1945, 50:109.
Hertzog, A. J. *Am. J. Clin. Path.*, 1945, 15:571.
Hine, T. G. M. *Med. Research Council, Spec. Rep.*, Series 3, No. 3, 99.
Jaeger, H. *Ztschr. f. Hyg.*, 1895, 19:351.
Kinsman, J. M., and D'Alonzo, C. A. *Ann. Int. Med.*, 1946, 24:606.
Kirkbride, M. B., and Cohen, S. M. *Am. J. Hyg.*, 1934, 20:444.
Kuhns, D. M., Nelson, C. T., Feldman, H. A., and Kuhn, L. R. *J.A.M.A.*, 1943, 123:335.
Laybourn, R. L. *South. Med. J.*, 1931, 24:678.
Levine, M., and Thomas, A. R. *J. Bacteriol.*, 1947, 53:33.
Little, P. A. *J. Immunol.*, 1938, 34:97.
Lohrey, R. C., and Toomey, J. A. *J. Pediat.*, 1946, 28:86.
Marchiafava and Celli. *Gass. d. ops.*, Milano, 1884, 8.
Mathers and Herrold. *J. Infect. Dis.*, 1918, 22:523.
Mayer, R. L., and Dowling, H. F. *J. Immunol.*, 1945, 51:349.
Menzel, A. E. O., and Rake, G. *J. Exper. M.*, 1942, 75:437.

MILLER, C. P. *Science*, 1933, 78:340.
——— *Proc. Soc. Exper. Biol. & M.*, 1935, 32:1138.
——— and BOOR, A. K. *J. Exper. M.*, 1934, 59:75.
——— and BOHNHOFF, M. *J.A.M.A.*, 1946, 130:485.
——— *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1945, 60:356.
——— *J. Bacteriol.*, 1947, 54:467.
MORTON, H. E. *J. Bacteriol.*, 1945, 50:589.
MUELLER, J. H., and HINTON, J. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1941, 48:330.
PETRIE, G. F. *Brit. J. Exper. Path.* 1932, 13:380.
PHAIR, J. J., and SCHOENBACH, E. B. *Am. J. Hyg.*, 1944, 40:318.
RAKE, G., and SCHERP, H. W. *J. Exper. M.*, 1933, 58:341, 361.
ROTONDO, C. C., and HANDELMAN, N. I. *J. Pediat.*, 1945, 27:576.
SCHWENTKER, F. F., GELMAN, S., and LONG, P. H. *J.A.M.A.*, 1937, 108:1407.
SHWARTZMAN, G. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1929, 26:207.
VON LINGELSHEIM. *Klin. Jahrb.*, 1906, 15:373.
WEICHSELBAUM, A. *Fortschr. d. Med.*, 1887, 5:573, 620.
WEINSTEIN, L., and STANLEY, E. D. *New Eng. J. Med.*, 1946, 234:364.
WHERRY, W. B., and OLIVER, W. W. *J. Infect. Dis.*, 1916, 19:288.
WHERRY and ERWIN. *J. Infect. Dis.*, 1918, 22:194.
WRIGHT, D. O., and REPPERT, L. B. *Arch. Int. Med.*, 1946, 77:143.
ZDRODOVSKY, P., and VORONINA, E. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1932, 48:617.
ZINSSER, H., KUTTNER, A., and PARKER, J. T. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1920, 18:49.

CAPITULO XXV

NEISSERIA GONORRHOEAE E INFECCIONES GONOCOCICAS

Familia: *Neisseriaceae* Prévot. Género: *Neisseria* Trevisan. Especie: *Neisseria gonorrhoeae* Trevisan

Vonderlehr y Usilton (1937) han calculado que cada año se adquieren en los Estados Unidos un millón de gonorreas. La blenorragia es la más frecuente de las enfermedades venéreas y posiblemente la más común de todas las infecciones que dan lugar a secuelas importantes (Thomas y Bayne-Jones, 1936). Según Pelouze (1946), la proporción de casos de gonorrea aguda y de sífilis temprana en el ejército era de seis a uno en 1944 y había aumentado a diez a uno por agosto de 1945. Entre 1 555 pacientes de la fuerza aérea admitidos en la clínica de enfermedades genitourinarias, el 44 por ciento tenían gonorrea, el 28 por ciento otro tipo de enfermedad venérea y el 28 por ciento tenían uretritis no específica (Benford y Holmes, 1946).

La infección primaria con *N. gonorrhoeae*, aunque molesta, no da síntomas alarmantes y con frecuencia pasa inadvertida aun para el paciente. Las secuelas y complicaciones, sin embargo, con frecuencia son graves, ya que las infecciones ginecológicas que requieren operación, la esterilidad en el hombre y en la mujer, la ceguera en el recién nacido y la vulvovaginitis epidémica en las niñas pueden provenir de una infección gonocócica asintomática.

Neisser, en 1879, describió los diplococos que había encontrado constantemente en las secreciones purulentas de casos agudos de uretritis y vaginitis y en los frotis preparados de las conjuntivitis agudas del recién nacido. *Neisseria gonorrhoeae* fué cultivado por Leistikow en 1882 y por Bumm en 1885. El último mantuvo cultivos puros del organismo por pasos seriados en suero sanguíneo humano coagulado y estableció su significación etiológica reproduciendo la enfermedad en voluntarios humanos.

El hombre es el único huésped conocido para *N. gonorrhoeae*. El organismo puede sobrevivir por años en los genitales masculinos o femeninos sin causar síntoma alguno que indique su presencia. La morfología, la estructura antigénica y los requerimientos de cultivo permiten suponer que el gonococo y el meningococo pueden provenir de un antecesor común. Los menigococos han sido aislados de algunas infecciones genitourinarias (Carpenter y Charles, 1942) y los gonococos se han aislado, en ocasiones, de las lesiones de estomatitis y de meningitis (Branham y colaboradores, 1938).

Morfología y tinción. En los frotis de secreción uretral el gonococo se ve como un coco oval o esférico de 0,8 μ por 0,6 μ. Los organismos, encontrados frecuentemente a pares, con los lados adyacentes aplanados, suelen ser intracelulares (fig. 57). En los frotis con frecuencia es irregular la distribución dentro de los fagocitos; muchos leucocitos polinucleares no albergan organismos, mientras que algunas células pueden contener hasta 20 a 50 o más cocos. En la gonorrea aguda siempre se encuentran formas extracelulares, pero en los casos crónicos la situación intracelular es excepcional.

En los frotis de cultivos puros, alrededor del 25 por ciento de los organismos están formando diplococos típicos; los demás, son cocos aislados, tétradas o racimos

de ocho o más (fig. 58). El gonococo *no es esporulado*, es *inmóvil* y no tiene cápsula, excepto en fase de variante mucoide (Almaden, 1938).

Neisseria gonorrhoeae se tiñe fácilmente con los colorantes de anilina. Se obtienen buenos resultados con el azul de metileno solo, o con eosina seguida de azul de metileno. También se pueden hacer excelentes preparaciones con colorantes policromos tales como el verde de metilo-pironina de Pappenheim-Saathoff. El gonococo es *gramnegativo*. La presencia de diplococos intracelulares *gramnegativos* en los frotis de pus de la uretra masculina permite sospechar la gonorrea. En los exudados de la vagina o del ojo el cuadro morfológico no es tan seguro, porque con frecuencia se encuentran en estas regiones cocos gramnegativos. En infecciones estafilocócicas de la conjuntiva, los organismos muertos pueden no retener el colorante azul y por tomar la coloración de contraste aparecen en los frotis formando cocos intracelulares gramnegativos; de aquí que deba prestarse atención considerable a la forma de los cocos, así como a sus reacciones de color.



FIG. 57. PUS GONORREICO DE LA URETRA; VÉANSE LOS COCOS DENTRO DE UN LEUCOCITO.

En casos médicolegales el diagnóstico de gonorrea puede ser puesto en duda si solamente se basa en el examen de los frotis teñidos. A menos que los organismos hayan sido aislados e identificados, es más prudente indicar solamente el hallazgo de diplococos intracelulares gramnegativos semejantes a los gonococos.

Caracteres de cultivo. El gonococo es delicado y difícil de cultivar. Los cultivos deben ser hechos de preferencia en la clínica o junto a la cama del paciente. Cuando las muestras no se pueden cultivar por varias horas, se deben recoger en pequeños hisopos de algodón fuertemente enrollados; la desecación de estas muestras se puede prevenir sumergiéndolas en un tubo de ensayo que contenga un poco de caldo (Morton y Leberman, 1944).

Los estudios de requerimientos de cultivo para cepas de gonococos recién aisladas se están iniciando; y cuando se completen se podrá disponer de un medio mucho más adecuado para el estudio de los antígenos de este organismo. Mueller e Hinton (1941) comprobaron que muchas muestras de agar contienen una substancia que inhibe el desarrollo de los gonococos. Sin embargo, el efecto inhibidor es neutralizado por adición al medio de almidón, mucina gástrica o la fracción insoluble del autolizado total de levadura (Gould y colaboradores, 1944).

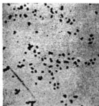


FIG. 58. FROTIS DE GONOCOCOS DE UN CULTIVO PURO.

Boor (1942) comprobó que los gonococos requieren azufre, suministrado como azufre orgánico en forma de compuestos de azufre o de cisteína. Algunas cepas requieren para el aislamiento primario la glutamina (Lankford y Snell, 1943) o glutatión, probablemente porque han perdido la capacidad para sintetizar estas substancias a partir de compuestos más simples. Para complicar la situación, Gould y colaboradores (1944) comprobaron que las cepas que requieren glutatión son inhibidas por la cisteína, aminoácido que puede estimular el desarrollo de otras cepas.

Lankford (1942) demostró que era esencial para el desarrollo de ciertas cepas un factor termolábil presente en la sangre, hígado fresco y levadura. Alture-Werber (1944) descubrió que este factor termolábil se podía encontrar en soluciones acuosas de extracto de hígado pulverizado. La hemoglobina y el plasma de caballo contienen substancias que estimulan el desarrollo del gonococo (Peizer y Steffen, 1942).

En contraste con estas investigaciones que señalan que el gonococo requiere muchas substancias complicadas para su desarrollo, Gould y colaboradores (1944) han cultivado varias cepas de gonococos en un medio simple que consta de ácido glutámico, histidina, glucosa, almidón, glutatión, magnesio, sales de hierro, fosfatos, cloruro sódico y agar.

El estado de confusión con respecto a los requerimientos para desarrollo del gonococo es similar al que existía con *H. influenzae* antes del descubrimiento de los factores X y V.

Investigadores tan experimentados como McLeod y colaboradores (1934) y Carpenter (1937) prefieren sangre total calentada o agar-chocolate para aislar los gonococos del organismo. Morton y colaboradores (1944) recomendaron la adición al agar-chocolate de las substancias estimulantes del desarrollo extraídas de la levadura y también cristal violeta en cantidad suficiente para una concentración final del colorante de 1:600 000. Este suplemento se halla en el comercio, ofrecido por Difco como Bacto-Supplement-A. El cristal violeta sirve como agente inhibidor selectivo para estafilococos, bacilos difteroides y otros contaminantes grampositivos. Morton y sus colaboradores obtuvieron un porcentaje más alto de cultivos positivos y colonias mucho más grandes en el medio suplementado que en el substrato común de agar-chocolate.

Todos los cultivos primarios se deben incubar a 37° C. en atmósfera que contenga *8 a 10 por ciento de* CO_2. Se pueden colocar en un frasco herméticamente cerrado y el aumento de tensión del CO_2 se puede lograr: 1) por extracción de una décima parte del aire reemplazándolo con CO_2; 2) introduciendo la luz de una vela en el frasco antes de cerrarlo, o 3) añadiendo un puñado de avena húmeda por cada litro de capacidad del frasco (Morton, 1945).

En *agar-chocolate*, después de incubación de 48 horas, aparecen colonias blanco-grisáceas, redondas, convexas, lisas, de 0,5 a 1 mm de diámetro. Con una incubación más prolongada las colonias pueden aumentar de tamaño y formar una superficie rugosa con bordes dentados. Las colonias son blandas y viscosas, como puede apreciarse con una asa de platino. Con el agar-chocolate suplementado de Morton, las colonias son más numerosas y de diámetro medio de 2 a 3 mm.

En *caldo*, el desarrollo es principalmente en superficie con cierto sedimento flocoso en el fondo del tubo.

Los gonococos son aerobios y se desarrollan mejor a 36° C. y pH 7,5. El desarrollo cesa por debajo de 30° C. y por encima de 38,5° C. Fermentan la glucosa con formación de *ácido* pero *sin gas* y producen *catalasa* e *indofenoloxidasa*. Las colonias de gonococos, meningococos y otras bacterias sintetizan indofenoloxidasa que les hace tomar color púrpura brillante cuando la placa se recubre con solución al uno por ciento de tetrametil-*p*-fenilendiamina. El exceso de colorante debe separarse rápidamente por inclinación o inversión de la placa. Los organismos no mueren por esta corta exposición y pueden cultivarse de nuevo durante los próximos treinta minutos. Cantor (1942) ha propuesto una prueba de solubilidad microscópica con hidróxido de sodio N/10 ó N/5 como medio para diferenciar las colonias aisladas de gonococos y meningococos de los otros miembros del grupo *Neisseria* que también dan la reacción de oxidasa.

Resistencia. Los gonococos sucumben por desecación en una o dos horas. El calor húmedo a 55° C. los mata en menos de 5 minutos y a 42° C. en cinco a quince horas (Carpenter y colaboradores, 1933). Son muy sensibles a los antisépticos usuales, especialmente NO_3Ag, el cual a la dilución de 1:4 000 destruye los gonococos en dos minutos. Los cultivos mantenidos a la temperatura de la habitación mueren en uno o dos días, y a 37° C., después de cuatro a seis. Los cultivos perfectamente tapados pueden mantenerse vivos durante cuatro o cinco semanas a la temperatura de la incubadora. Los organismos son tan delicados que la liofilización no es un buen método de preservación.

El punto térmico mortal del gonococo es tan bajo que Carpenter y colaboradores (1933), usando un aparato eléctrico de diatermia de alta frecuencia, indujeron fiebre artificial para tratar pacientes con infecciones gonocócicas. En casos de artritis gonocócica se observó una mejoría espectacular.

Los gonococos son muy sensibles también a las *sulfonamidas* y a la *penicilina*. Sin embargo, se desarrollan rápidamente cepas resistentes conforme se introduce una nueva sulfonamida en el tratamiento. Las cepas resistentes adquieren la capacidad de sintetizar el ácido paraaminobenzoico (Landy y Gerstung, 1945). La resistencia a la penicilina es menos común, pero también ocurre (Miller y Bohnhoff, 1945). La *estreptomicina* inhibe el desarrollo de *N. gonorrhoeae* a una concentración de 5 a 15 microgramos por c.c. de cultivo líquido, pero también se producen fácilmente cepas resistentes a esta droga (Miller y Bohnhoff, 1946).

Variabilidad. El fenómeno de la variación ha sido investigado de manera menos completa con *N. gonorrhoeae* que con otros organismos. Atkin, en 1925, observó dos tipos de colonias. Cuando se desarrollaban en placas gruesas de triptagar a pH 7,8, las colonias del tipo I fueron descritas como grandes, planas, irregularmente redondas, translúcidas, de bordes ondulados. Después de incubación de cinco a ocho días aparecen colonias secundarias como papilas y los subcultivos de estas colonias secundarias dan lugar a organismos más resistentes al medio externo que las cepas madres originales. Las colonias de tipo II son menores, algo convexas, opacas y blancoamarillentas. La superficie es ligeramente desigual y el borde continuo o algo lobulado. No se producen papilas secundarias. En 1934, Raven describió una colonia variante enana y Morton y Shoemaker (1945) aislaron colonias similares del material clínico. Los últimos autores lograron la variación de la colonia pequeña y volvieron a obtener la colonia grande de tamaño normal. Miller y Bohnhoff (1946) observaron cambios groseros de las colonias en cepas de gonococos resistentes a la penicilina, pero no en las resistentes a la estreptomicina.

Existe cierta relación entre la forma de la colonia y el tipo serológico del organismo. Atkin (1925) comprobó que en los cultivos recién aislados predominaban las colonias de tipo I, mientras que las colonias de tipo II se encontraban en las cepas viejas, o en las obtenidas de casos de gonorrea crónica. Consideró al tipo I como la forma parásita y al tipo II como la forma saprófita del organismo. Parece haber un cambio gradual del tipo I al tipo II como ocurre con el tipo de variación observado en *H. pertussis*.

Metabolitos bacterianos. Los únicos metabolitos no tóxicos conocidos, de los gonococos, son *polisacáridos específicos*, *catalasa* y la *indofenoloxidasa*, causa de la "reacción de oxidasa".

Endotoxinas. Los cuerpos de los gonococos contienen una endotoxina que mata a los animales de laboratorio en los casos en que se inyecta en grandes cantidades. Esta endotoxina es similar a la endotoxina del meningococo. No se han demostrado exotoxinas.

Estructura antigénica. En 1944, Boor y Miller aislaron un *complejo lipoide-carbohidrato-núcleoproteína* de los gonococos y meningococos. La *fracción antigénica glucolipoidea* se desdoblaba por hidrólisis moderada y se podía producir un alto título de precipitinas con título bajo de aglutininas, si se inyectaba a los conejos. La núcleoproteína era tóxica, idéntica a la obtenida de los gonococos, meningococos y neumococos de tipo II. El *carbohidrato somático* también estaba presente en otros miembros del grupo *Neisseria.* Es evidente que estos carbohidratos somáticos no se pueden utilizar para la clasificación de gonococos en tipos (Stokinger y colaboradores, 1944).

Casper, en 1937, revisó el trabajo previo de Torrey, Teague y Torrey, de Tulloch y de Atkin, quienes sólo lograron un éxito parcial en sus intentos para clasificar los gonococos en tipos específicos por la reacción de aglutinación. Casper (1930, 1937a y b) aisló un polisacárido específico de los gonococos de tipo I y de tipo II, que probablemente explicaba la aglutinación específica del organismo. La mayor parte de las cepas recién aisladas de casos agudos de gonorrea pertenecían al tipo I, mientras que los cultivos viejos conservados y los organismos de casos crónicos de gonorrea pertenecían al tipo II. Hasta el 30 por ciento de las cepas eran intermedias y dieron grados variables de aglutinación con los antisueros preparados contra los tipos I y II. Los resultados de Casper concuerdan con los de Atkin (1925) quien comprobó que se producía un cambio gradual en la estructura antigénica desde el tipo I al tipo II cuando los cultivos se conservaban en el laboratorio. El caso es análogo al de *H. pertussis*, en el cual hay un cambio gradual en la estructura antigénica desde la fase I hasta la fase IV. Con los gonococos como con *H. pertussis*, el cambio no es uniforme en todo el cultivo, ya que Casper (1938) ha encontrado en una sola placa colonias que eran de tipo I, otras de tipo II y otras que dieron reacciones cruzadas con ambos tipos de sueros. Como con el *pertussis,* no hubo un cambio definido en las estructuras de las colonias que pudiera ser relacionado con el cambio de antígenos.

La fracción proteínica dió reacciones tóxicas inyectada en la piel de individuos normales. Los polisacáridos específicos no tenían efecto en individuos normales, pero dieron una reacción alérgica específica cuando se inyectaron intradérmicamente a pacientes con gonorrea. La reacción al polisacárido de tipo I casi siempre fué positiva en casos agudos de gonorrea; lo fué para el polisacárido de tipo II en casos crónicos (Casper, 1930, 1937b).

Phair, Smith y Root (1943) produjeron sueros aglutinantes específicos de título alto por inyección intravenosa de gonococos vivos a los pollos. Estos sueros dieron aglutinación rápida y específica sin incubación a 37° C. o conservación en la nevera; todo parece indicar que los sueros preparados de este modo resultarían útiles para clasificar los gonococos en tipos o grupos específicos.

La fijación del complemento, como cabía esperar, no estableció una separación precisa entre los tipos I y II. La reacción, sin embargo, es útil en el diagnóstico de infecciones obscuras sospechosas de origen gonocócico.

Enfermedad experimental en los animales de laboratorio. Aunque los animales de laboratorio pueden morir con grandes dosis de gonococos vivos o muertos, la muerte evidentemente es debida a la endotoxina. Los monos y los grandes antropoides no pueden ser infectados.

Boor y Miller (1944) encontraron una sola cepa de gonococos que produciría una infección mortal en ratones inyectada intraperitonealmente junto con mucina; Miller y colaboradores (1945) produjeron infecciones locales en la cámara anterior del ojo de conejos albinos jóvenes.

Tiene lugar una reducción notable de la virulencia cuando los gonococos son aislados en agar-chocolate. Van Slyke y colaboradores (1946) produjeron gonorrea experimental en voluntarios humanos por el paso directo de pequeñas cantidades de secreción uretral conteniendo algunos gonococos; se requirieron dosis muy grandes de organismos de cultivos recién aislados para producir la enfermedad.

Tipos clínicos de infección en el hombre. El período de incubación para la uretritis gonocócica en experimentos humanos vigilados fué de tres a cinco días, con límites extremos de 1 a 31 días (Van Slyke y colaboradores, 1946).

La mayor parte de las infecciones gonocócicas tienen lugar en las vías genitales masculina y femenina, pero las infecciones extragenitales son bastante frecuentes aun cuando el porcentaje resulte pequeño. Entre las infecciones locales hállanse *cistitis, proctitis, estomatitis* y *conjuntivitis*. Los organismos también invaden la corriente sanguínea dando lugar a *septicemia, artritis, osteomielitis, endocarditis* y *meningitis*.

La *oftalmía gonocócica* es la complicación grave más frecuente producida por *N. gonorrhoeae*. Los ojos se pueden infectar por organismos de los cuales el paciente es portador o llevados por otros. La oftalmía del recién nacido puede producirse por otros organismos, pero casi invariablemente es causada por el gonococo. Es adquirida por el niño en el curso del parto, por las secreciones de la madre; si no es atendida, puede llevar a la ceguera. La importancia de esta infección se puede estimar por las cifras siguientes de Kerr citadas por Rosenau: en 1910, en Estados Unidos y Canadá, el 23,9 por ciento de 351 ingresados en escuelas para ciegos sufrían ceguera originada por infección gonocócica. Afortunadamente el método de Credé logró evitar casi siempre esta complicación. Credé, hace muchos años, propuso instilar una solución de nitrato de plata al dos por ciento en el saco conjuntival de todos los niños en el momento del nacimiento. Es de extrema importancia que esto sea hecho de manera adecuada y que todo el saco conjuntival sea bañado por el líquido. El método es tan importante que está considerado como muy seria e inexcusable omisión, sean cuales sean las circunstancias y el tipo de población, que el médico no lo emplee tan pronto como sea posible después del nacimiento.

Otro problema muy importante creado por la gonorrea es la *vulvovaginitis* en las niñas. Según nuestra experiencia, esta infección ha ocurrido principalmente en pabellones de Pediatría en hospitales. También ha sido observada en escuelas y en familias reducidas en que las niñas se infectaron por dormir en las mismas camas que los adultos. En los hospitales, la enfermedad puede convertirse en epidemia y pasar de una cama a otra con facilidad asombrosa cuando se considera la vida delicada del gonococo fuera del organismo. En muchos casos ha sido muy difícil detener la extensión de la infección a pesar de las precauciones más rígidas.

En nuestra opinión, es extremadamente importante que los frotis se preparen no solamente con la secreción visible, sino también con la de la parte más alta de la vagina (emplear un pequeño espéculo de Kelly, con buena iluminación). Cuando en una institución hay peligro de diseminación e inadvertidamente se ha admitido un caso, sólo puede evitarlo un gran cuidado para suprimir el contacto indirecto de cama a cama. En los pabellones de niñas debería haber un termómetro para cada paciente, a menos que todos los termómetros sean esterilizados muy cuidadosamente. Los termómetros deben conservarse en soluciones diluídas de fenol y lavarse con alcohol antes del uso. Debe atenderse a la esterilización de servilletas y toallas. Las enfermeras que traten casos con secreción, deben llevar guantes. Las toallas y utensilios de lavado no serán de uso común. Debe prestarse gran atención a la limpieza de las bañeras. Las ropas de cama, vestidos de noche, etc., deben esterilizarse por ebullición. Una investigación interesante de Lewis (1936) señala que por inyección de hormona

ovárica (foliculina) puede mejorar o curar la vaginitis gonocócica en las niñas. Así, el delicado epitelio de la mucosa vaginal infantil se transforma en el menos vascularizado y más grueso de tipo adulto.

Transmisión. Los datos adquiridos de los diversos estudios demuestran, según Vonderlehr y Usilton (1937), que anualmente en Estados Unidos, por lo menos un millón de personas adquieren gonorrea. La frecuencia es mayor en las ciudades de 50 000 a 500 000 habitantes y menor en zonas metropolitanas y rurales. El promedio de edad al adquirir la infección es de 29 años para los hombres blancos, de 24 años para los hombres negros y de 24 años para las mujeres blancas. Aproximadamente 230 000 futuras madres adquieren anualmente la gonorrea en los Estados Unidos. Ha habido una ligera disminución en la frecuencia de la gonorrea en algunos países europeos, pero no hay pruebas de que así ocurra en Estados Unidos.

Uno de los grandes peligros en relación con la infección gonocócica ha sido la indiferencia del público para esta enfermedad. En el pasado no se apreciaba la gravedad de la infección, que por su importancia económica y social es igual, si no mayor, que la de la sífilis.

Es muy importante tener presente la dificultad de lograr la curación completa; un hombre que ha contraído la gonorrea puede parecer completamente curado, pero en caso de haber sufrido una uretritis posterior puede albergar gérmenes viables e infectar a otras personas durante muchos años. Por lo tanto, individuos que parecen curados desde años pueden aún causar infección en el matrimonio, hecho que es la causa más frecuente de lesiones ginecológicas en las mujeres. A ello debe agregarse que en muchos casos ni el examen bacteriológico más cuidadoso permite descubrir los gonococos.

Pelouze (1946) cree que por lo menos el cincuenta por ciento de las infecciones crónicas en la mujer no pueden ser diagnosticadas con los métodos de estudio existentes en la actualidad.

Los gonococos permanecen viables por corto tiempo en la ropa de uso, ropas de cama, toallas y pañales. Los médicos, enfermeras y asistentes deben tener constantemente presente el peligro de infección por estas fuentes.

Productos biológicos. No se ha producido ningún suero antibacteriano eficaz para el tratamiento ni la profilaxis. Sin embargo, el suero antibacteriano específico de tipo y el nuevo suero de pollo producido por Phair y colaboradores (1943) son útiles para la clasificación de los gonococos. De los cultivos de gonococos se puede preparar un antígeno fijador del complemento que suele dar reacción positiva en la gonorrea aguda, pero que, en contraste con lo que ocurre en la sífilis, se hace negativa cuando la infección alcanza la fase inactiva.

Tratamiento. En 1937, Dees y Colston publicaron los éxitos logrados por el uso de la sulfanilamida en el tratamiento de la gonorrea. Sus resultados fueron inmediatamente confirmados en todo el mundo y hubo gran esperanza de que la gonorrea pudiera ser eliminada como plaga de la raza humana. En las primeras series publicadas hubo curación rápida y completa en más del 90 por ciento de los pacientes. En las posteriores, sin embargo, los porcentajes de curación iban disminuyendo a 80, 70 y finalmente a 50 por ciento. Tal resultado desalentador fué causado por la rápida aparición de cepas sulfamidorresistentes que lograron perpetuar la enfermedad. Cada nueva sulfamida lograba gran éxito luego de su introducción, pero su eficacia disminuía conforme aparecían cepas resistentes. Entonces se descubrió la *penicilina*, eficaz contra las cepas sulfamidorresistentes. También aparecieron gonococos resistentes a la penicilina, pero con rapidez menor. Estas cepas resistentes son, a su vez, sensibles a la *estreptomicina* y viceversa (Miller y Bohnhoff, 1946).

La vulvovaginitis rebelde de las niñas responde bien al tratamiento con penicilina (Naegele, 1945); se han obtenido curaciones rápidas en casos que resistieron al tratamiento combinado con sulfamidas y foliculina (Lee y Sussman, 1946).

Prevención. En la edición anterior de esta obra se decía: "Sin educación pública y cooperación no se pueden lograr resultados en gran escala en higiene pública. Uno de los factores más importantes que ha impedido el progreso de la profilaxis de las enfermedades venéreas ha sido la ignorancia pública". Las enfermedades venéreas constituyen esencialmente problemas sociales y no pueden resolverse solamente por procedimientos médicos.

Durante los últimos diez años, como resultado del denuedo del cirujano general Parran, sus colegas y amigos, la gravedad del problema de la gonorrea y de otras enfermedades venéreas ha sido llevada a la atención del público por medio de la prensa, radio y reuniones públicas. De hecho, la prevención de la sífilis y la gonorrea es ahora objeto de consideración en las conversaciones de la buena sociedad.

Por todos los Estados Unidos se han establecido clínicas especiales, hospitales públicos y otras facilidades gratuitas para tratamiento de las enfermedades venéreas.

Es de la mayor importancia que todo paciente reciba tratamiento adecuado con las sulfamidas apropiadas o con antibióticos para prevenir el desarrollo de cepas sulfamidorresistentes. Si surgieran cepas que fueran resistentes a todos los agentes terapéuticos, el progreso notable logrado en los últimos diez años podría desaparecer y el gonococo habría ganado nuevamente la vieja batalla para parasitar al hombre.

BIBLIOGRAFIA

Almaden, P. J. *J. Infect. Dis.*, 1938, 62, 36.
Alture-Werber, E. *J. Bacteriol.*, 1944, 47:399.
Atkin, E. E. *Brit. J. Exper. Path.*, 1925, 6:235.
Benford, R. T., and Holmes, E. M. *Urol. & Cutan. Rev.*, 1946, 50:133.
Boor, A. K. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1942, 50:22.
——— and Miller, C. P. *J. Infect. Dis.*, 1944, 75:47.
Branham, S. E., Mitchell, R. H., and Brainin, W. *J.A.M.A.*, 1938, 110:1804.
Bumm. *Beiträge zur Kenntniss des Gonococcus*, Wiesbaden, 1885.
Cantor, A., Shelanski, H. A., and Willard, C. Y. *J. Bacteriol.*, 1942, 44:237.
Carpenter, C. M. *J.A.M.A.*, 1937, 109:1428.
——— and Leahy, A. D. *Am. J. Syph., Gonor., & Ven. Dis.*, 1936, 20:347.
——— Boak, R., Mucci, L. A., and Warren, S. L. *J. Lab. & Clin. M.*, 1933, 18:981.
——— and Charles, R. *Am. J. Pub. Health*, 1942, 32:640.
Casper, W. A. *J. Bacteriol.*, 1937(a), 34:353.
——— *J. Immunol.*, 1937(b), 32:421.
——— *Klin. Woch.*, 1930, 9:2154.
——— *J. Bacteriol.*, 1938, 36:111.
Christie, A. L. M., and Cook, G. T. *J. Hyg.*, 1947, 45:149.
Dees, J. E., and Colston, J. A. C. *J.A.M.A.*, 1937, 108:1855.
Gould, R. G., Kane, L. W., and Mueller, J. H. *J. Bacteriol.*, 1944, 47:287.
Landy, M., and Gerstung, R. B. *J. Immunol.*, 1945, 51:269.
Lankford, C. E. *J. Bacteriol.*, 1942, 44:139.
——— and Snell, E. E. *J. Bacteriol.*, 1943, 45:410.
Lee, H. F., and Sussman, W. *J. Pediat.*, 1946, 28:590.
Leistikow. *Berl. Klin. Wchnschr.*, 1882, 19:500.
Lewis, R. M. *Yale J. Biol. & Med.*, 1932-33, 5:495.
——— and Adler, E. L. *J.A.M.A.*, 1936, 106:2054.
McLeod, J. W., Coates, J. C., Happold, F. C., Priestley, D., and Wheatley, B. *J. Path. & Bacteriol.*, 1934, 39:221.
Miller, C. P., and Bohnhoff, M. *J. Bacteriol.*, 1947, 54:8.
——— *J.A.M.A.*, 1946, 130:485.
——— *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1945, 60:354.
——— Drell, M. J., Moeller, V., and Bohnhoff, M. *J. Infect. Dis.*, 1945, 77:193, 201, 216.
Morton, H. E. *J. Bacteriol.*, 1945, 50:589.
——— and Shoemaker, J. *J. Bacteriol.*, 1945, 50:585.
——— and Leberman, P. R. *U. S. Naval Med. Bull.*, 1944, 43:409.

MUELLER, J. H., and HINTON, J. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1941, 48:330.
NAEGELE, C. F. *Arch. Pediat.*, 1945, 62:516.
NEISSER. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1882, 8:279.
——— *Centralbl. f. d. med. Wissensch.*, 1879, 17:497.
PEIZER, L. R., and STEFFEN, G. I. *Ven. Dis Info.*, 1942, 23:224.
PELOUZE, P. S. *Med. Clin. North America*, 1946, 30:233.
PHAIR, J. J., SMITH, D. G., and ROOT, C. M. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1943, 52:72.
RAVEN, C. *J. Infect. Dis.*, 1934, 55:328.
STOKINGER, H. E., ACKERMAN, H., and CARPENTER, C. M. *J. Bacteriol.*, 1944, 47:141.
THOMAS, R. B., and BAYNE-JONES, S. Report of Committee for Survey of Research on the Gonococcus and Gonococcal Infections, *Am. J. Syph., Gonor. & Ven. Dis.*, 1936, 20, Supplement.
VAN SLYKE, C. J., CUTLER, J. C., and BLUM, H. L. *Am. J. Syph., Gonor. & Ven. Dis.*, 1946, 30:1.
VONDERLEHR, R. A., and USILTON, L. J. *J.A.M.A.*, 1937, 109:1425.

CAPITULO XXVI

CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE Y DIFTERIA

Orden: *Eubacteriales* Buchanan. Familia: *Corynebacteriaceae* Lehmann y Neumann. Género: *Corynebacterium* Lehmann y Neumann. Especie: *Corynebacterium diphtheriae* (Flügge) Lehmann y Neumann

CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE

Entre 1850 y 1860 apareció en Francia una forma maligna de difteria que se diseminó lentamente por el mundo. La intensidad máxima de la epidemia en Inglaterra fué observada en Londres en 1874. Esta forma virulenta de la enfermedad alcanzó Boston alrededor de 1872; la mortalidad en esa ciudad aumentó desde 35 a 218 por 100 000 entre 1872 y 1881 (Newsholm, 1898). Desde 1880 a 1930 se han registrado por todo el mundo pequeñas ondas epidémicas recurrentes con intervalos de cinco a diez años, pero ha habido una declinación gradual y muy neta de la frecuencia de la enfermedad aun en países como Noruega, donde no se empleó la inmunización profiláctica. La gráfica siguiente (fig. 59) muestra la reducción espectacular de la mortalidad en la ciudad de Nueva York desde las cifras máximas de 1 175 y 1 005 por 100 000 en 1881 a 1887, a casi 0 en 1935. Declinaciones similares se han observado en muchas otras comunidades por todos los Estados Unidos.

Los resultados excelentes logrados en Nueva York fueron debidos principalmente al trabajo de iniciación del doctor William H. Park y sus colaboradores en el servicio municipal de higiene de esa ciudad. Por el año 1900 quedó a disposición de todo paciente una antitoxina diftérica potente, y en 1915 comenzó una inmunización activa en masa.

En 1927 fué reconocida en Berlín una, al parecer, nueva y más virulenta forma de difteria. Alcanzó Inglaterra en 1933 y pareció extenderse lentamente por el mundo (McLeod, 1943). Los estudios de cepas de *C. diphtheriae* obtenidas de esta forma virulenta de la enfermedad en Inglaterra demostraron que pertenece al tipo *gravis* (McLeod, 1943).

En los próximos años probablemente podrá saberse la contestación a una pregunta de gran importancia teórica y práctica, a saber: ¿Puede mantenerse la baja mortalidad de la difteria con los métodos actuales de tratamiento y profilaxis si nos invade esta cepa virulenta?

Las observaciones de Bretonneau de Tours, publicadas en 1826, establecieron la difteria como una entidad clínica. El organismo, descrito por Klebs (1883) en los frotis de las seudomembranas de las gargantas de pacientes con difteria, fué aislado en cultivo puro el año siguiente por Löffler. Con frecuencia *C. diphtheriae* se denomina bacilo de Klebs-Löffler o bacilo de K. L. Al principio Löffler dudaba, al parecer, de la relación de su organismo con la difteria, ya que lo encontró en varias ocasiones en las gargantas de individuos normales y no siempre se encontraba en la seudomembrana. Tampoco pudo explicar a satisfacción algunas de las manifestaciones generales de la infección que ahora se sabe dependen de la acción de la toxina diftérica. El descubrimiento de la exotoxina diftérica por Roux y Yer-

sin, en 1888, eliminó toda clase de dudas en cuanto a la relación de *Corynebacterium diphtheriae* con la enfermedad.

El hombre es el único huésped natural de *Corynebacterium diphtheriae*. El organismo se aloja en la nasofaringe; la infección puede ser adquirida por contacto con una persona que sufra la enfermedad, un convaleciente o un portador sano. Otros miembros no patógenos del género, tales como *C. pseudodiphtheriticum*, *C. xerose* y varios tipos no clasificados de bacilos difteroides, son habitantes de la garganta normal. Otras especies de *Corynebacterium* como *C. ovis*, *C. pyogenes*, *C. equi*, *C. renale* y *C. murium* causan enfermedad en los animales inferiores (Brooks y Hucker, 1944). Maclean y colaboradores, en 1946, aislaron *C. ovis* y *C. pyogenes* en heri-

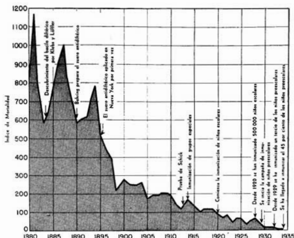


FIG. 59. GRÁFICA QUE MUESTRA LA DISMINUCIÓN DE LA DIFTERIA EN LA CIUDAD DE NUEVA YORK DESDE 1880 A 1935.
(Con autorización de la Compañía de seguros de vida Metropolitan.)

das de soldados de las Islas del Sur y Oeste del Pacífico. *C. acnes* fué encontrado en lesiones acneiformes en el hombre por Unna, en 1896, y aislado por Sabouraud en 1897.

Morfología y tinción. En clínica se hacen con frecuencia tentativas de identificación de *C. diphtheriae* solamente por las características morfológicas de organismos desarrollados en medio de Löffler. Aunque *C. diphtheriae* es una de las más pleomórficas entre las bacterias conocidas y varía según la edad del cultivo, pH y composición del medio, tensión de oxígeno y otros factores, en la mayor parte de los casos el observador que tiene práctica puede establecer el diagnóstico exacto con un frotis teñido.

Los técnicos de laboratorio menos experimentados deberán aislar el organismo en un medio diferencial y utilizar otras técnicas, incluyendo una prueba de virulencia, como criterio diagnóstico. Algunas cepas morfológicamente típicas pierden la capacidad de producir exotoxina y no pueden ser diferenciadas de cepas toxógenas ni por los investigadores más expertos.

Los miembros del género *Corynebacterium* muestran gran tendencia a presentarse en *empalizadas*, formadas de organismos dispuestos paralelamente. Las formas más características de *C. diphtheriae* se encuentran en los frotis de cultivos de 18 a 24 horas en medio de Löffler. Los bacilos suelen aparecer como bastones delgados, rectos o ligeramente curvados, que varían de 1,2 μ a 6,4 μ de longitud y de 0,3 μ a 1,1 μ de grosor. Rara vez el espesor es uniforme en toda su longitud; con frecuencia se observan engrosamientos en forma de maza en uno o en ambos extremos. En ocasiones los bacilos son más anchos en el centro y se afilan hacia los extremos (figuras 60, 61).

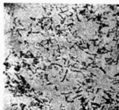


FIG. 60. CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE.

Además de las formas en maza, granulares, en barra, cuña, intensamente teñidas, *C. diphtheriae* puede producir formas en "V", "L" e "Y", o aparecer como cadenas de estreptococos o formas redondas que semejan cocos. Los organismos ramificados que se encuentran en los cultivos viejos, y particularmente en las colonias de tipo "R", hicieron que se clasificara *C. diphtheriae* en el orden de *Actinomycetales*. Wesbrook y colaboradores (1900) y otros investigadores lograron cierto éxito al intentar relacionar la morfología de las diversas cepas con su virulencia y toxicidad.



FIG. 61. CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE. Tinción de Gram. × 2000.

C. diphtheriae es *inmóvil, no esporulado* y no tiene cápsulas.

El organismo es *grampositivo;* siempre deben examinarse frotis teñidos por el método de Gram. Con el azul de metileno alcalino de Löffler o con el azul de toluidina, muchos de los bastones muestran bandas transversales poco teñidas situadas entre áreas teñidas con mayor intensidad, dando a los organismos aspecto perlado o en rosario. Con frecuencia se ven gránulos metacromáticos más intensamente teñidos en uno o en ambos extremos. A veces se encuentran repartidos irregularmente por toda la longitud del bacilo. Estas estructuras, descubiertas por Babes y Ernst en 1889, con frecuencia se llaman *gránulos polares* o *de Babes-Ernst*.

Fueron originalmente interpretados como esporas, pero ahora se sabe que son gránulos de *volutina*. Para intensificar la tinción de los gránulos se han creado colorantes especiales como los de *Neisser* y *Ljubinsky* (Morton y Francisco, 1942). Algunos otros bacilos, especialmente ciertas cepas de *Pseudomonas aeruginosa (B. pyocyaneus)*, muestran gránulos bien teñidos y pueden ser confundidos con *C. diphtheriae*, si el observador olvida que el primero es más grueso y *gramnegativo*.

Los frotis hechos directamente de la garganta muestran a veces gérmenes con morfología típica de *C. diphtheriae*, pero los bacilos son más cortos y se tiñen más uniformemente. El técnico de laboratorio poco experimentado no debe intentar establecer un diagnóstico, ni que sea provisional, de difteria a base de frotis directos.

Caracteres de cultivo. *C. diphtheriae* se desarrolla fácilmente en agar-caldo, en pH 7,2 a 7,8, a temperaturas variables desde 15° C. a 40° C. con un óptimo entre 34° C. y 37° C. (fig. 62). Es *aerobio* y se desarrolla muy pobremente en condiciones anaerobias, excepto una cepa ocasional como la estudiada por Emilio (1938). Los requerimientos de desarrollo para *C. diphtheriae* han sido muy bien estudiados por Mueller (1940) y sus colaboradores, quienes han obtenido mucha información tanto de valor práctico como teórico. Mueller cultivó la bien conocida cepa productora de toxina (Park N° 8) en un medio sintético que contiene aminoácidos y pequeñas cantidades de ácido nicotínico, betaalanina o ácido pantoténico y ácido pimélico (du Vigneaud y col., 1942). Más tarde, éste fué substituído por biotina. Las cepas recién aisladas también requieren ácido oleico (Cohen y colaboradores, 1941). Para el aislamiento primario y para el cultivo de cantidades mínimas de material se requieren dos factores de desarrollo termoestables accesorios; uno se encuentra en los sueros de caballo y vaca y el otro, probablemente ácido oleico, en la caseína comercial.

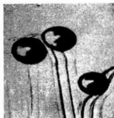


Fig. 62. Colonias de C. diphtheriae en agar-sangre.

Medios de telurito. Cuando las células de *C. diphtheriae* se cultivan en presencia de sales de ácido teluroso, las sales son absorbidas y reducidas al metal coloreado (Klett, 1900). Con el microscopio electrónico, Morton y Anderson (1941) han demostrado cristales de telurio en las células bacterianas. Conradi y Troch (1912) introdujeron un medio de telurito para aislar los bacilos diftéricos valiéndose del característico color gris y negro que desarrollan las colonias que crecen en este medio. La cistina u otro compuesto similar de azufre es esencial para el desarrollo de *C. diphtheriae*, pero un exceso de cistina en un medio que contenga telurito potásico inhibe claramente su desarrollo y el de otros organismos (Mueller y Miller, 1946). Es evidente que estos dos factores deben ser equilibrados cuidadosamente.

Un medio de agar-telurito-chocolate fué empleado por Anderson y sus colaboradores (1931) para diferenciar *C. diphtheriae* en los tipos *mitis*, *gravis* e *intermedius*. Estudios similares han sido llevados a cabo en Alemania con medio de Clauberg de telurito-glicerol-suero espesado (1936).

El medio de telurito descrito por Mueller y Miller (1946) parece tener ventajas definidas sobre las modificaciones previas, particularmente para aislar *C. diphtheriae* de los portadores. Los materiales básicos se encuentran en el comercio en forma de polvo deshidratado y de concentrado líquido.

El polvo se compone de agar, caseína, triptófano, aminoácidos de caseína hidrolizada y sales minerales. El concentrado líquido consta de telurito potásico, suero estéril de caballo o de vaca, lactato sódico, pantotenato de calcio y alcohol etílico. Diluído con agua el material deshidratado y esterilizado, se añade el concentrado líquido.

Después de una incubación de 48 horas en medio de telurito de Mueller-Miller, las colonias tipo *mitis* son de 1,0 a 1,5 mm de diámetro, convexas, negras y bri-

llantes. Las colonias tipo *gravis* son de 2 a 3 mm de diámetro, planas, con bordes algo irregulares y superficie mate de color gris pizarra. Las colonias del tipo *intermedius* son de 0,2 a 0,3 mm de diámetro y tienen color gris pardusco. Excepto por una prominencia central, las colonias son delgadas y planas, con bordes ligeramente dentados.

C. pseudodiphtheriticum y otros bacilos difteroides se desarrollan bien en este medio, produciendo colonias que semejan el tipo *mitis*, pero no suelen ser tan obscuras, o tiñen un centro obscuro con periferia blancogrisácea.

Los bacilos diftéricos desarrollados en medios de telurito son más cortos y se tiñen más uniformemente que cuando se desarrollan en medio de Löffler, lo cual hace su reconocimiento difícil. Por esta razón muchos investigadores aconsejan el uso simultáneo de ambos medios (Cooper y colaboradores, 1939; Perry y Petran, 1939; Albers, 1947). Las colonias se escogen del medio de telurito; la morfología del organismo se estudia en los frotis teñidos preparados del desarrollo en medio de Löffler.

En medio de Löffler aparecen colonias pequeñas, blancogrisáceas, brillantes, después de una incubación de 12 a 24 horas a 37° C. Mueller y Miller (1946) consideran que este medio es más bien un medio de hambre para el desarrollo de los bacilos, lo cual probablemente explica el desarrollo de formas raras pero fácilmente reconocibles.

Los cultivos mezclados se pueden purificar por siembra en medios con telurito o en agar-sangre. Las colonias son algo mayores en agar-sangre que en medio de Löffler y están rodeadas por una estrecha zona de *hemólisis* después de incubación de 24 a 48 horas.

Fermentan la glucosa, maltosa y dextrina con producción de *ácido, sin gas.* No fermentan la lactosa, sacarosa ni manitol (Zinsser). Los *nitratos* son reducidos a *nitritos* pero no forman *indol* (Morton, 1940a). El *almidón* y el *glucógeno* suelen fermentar por cepas de tipo *gravis.* Para las pruebas de fermentación debe usarse almidón de maíz o para ropa, pero no "almidón soluble" del comercio (Mueller y Miller, 1946). El *agua-suero de Hiss* es la mejor base para determinar las fermentaciones de polisacáridos. Sin embargo, las reacciones de fermentación no siempre son constantes.

Producción de pigmento. Ocasionalmente aparecen colonias que tienen color amarillo o amarillo limón (Morton, 1940b).

Resistencia. *C. diphtheriae* ha sido cultivado de porciones secas de seudomembranas después de 14 semanas. El organismo es más resistente a la acción de la luz, desecación y enfriamiento que la mayor parte de los bacilos no esporulados. Los bacilos mueren por ebullición durante un minuto, o si se someten a la temperatura de 58° C. durante diez minutos. Se destruyen por los antisépticos usuales. El violeta de genciana sólo es moderadamente bactericida, pero resulta muy eficaz para inhibir el desarrollo de *C. diphtheriae.*

C. diphtheriae es moderadamente resistente a las *sulfamidas* pero muy sensible a la *penicilina.* El desarrollo se inhibe por la *estreptomicina* en concentraciones de 0,375 a 3,75 microgramos por c.c. de cultivo líquido.

Variabilidad. Morton, en 1940, publicó sus amplias investigaciones y revisó la literatura existente sobre variación de *C. diphtheriae.* Este autor ha presentado un cuadro muy completo de las potencialidades de variación de la especie.

Hobby (1935) describió la fase mucoide (M) y Morton (1940a, b) añadió las formas lisa (S), intermedia (SR), rugosa (R), enana (D) y gonidial (G). Todas estas formas, cuando derivaban de un cultivo virulento, producían una exo-

toxina y mataban a los cobayos; las toxinas producidas por las colonias SR parecían ser las más potentes. En contraste con la mayor parte de otros organismos, su comportamiento con los sueros específicos de tipo no se alteraba con los cambios en la forma de la colonia. Además, las formas de la colonia de *C. diphtheriae* permanecen estables tanto en el paciente como en los medios de cultivo. Se lograron fácilmente alteraciones temporales en la morfología de la colonia, modificando factores ambientales, pero una verdadera variación fué difícil de obtener.

Tipos de corynebacterium diphtheriae

	Tipo *mitis* S	Tipo *gravis* SR	Tipo *intermedius* sR
Morfología	Formas largas con gránulos metacromáticos; 80% típicas	Cortos, uniformemente teñidos; 50% a 60% típicos	Formas largas en barra, extremos abultados; 80% típicas
Aspecto en agar-sangre calentado	Colonias medianas, lisas, húmedas, convexas, brillantes; semiopacas	Colonias grandes, planas, secas, mate, opacas	Colonias pequeñas, planas, finas, secas, opacas, con una ligera zona verdosa
Aspectos en medio de telurito con sangre o suero	Lo mismo que el anterior, pero negras brillantes	Lo mismo que el anterior, pero negras, negrogrisáceas o negras sin brillo, con estriaciones radiales	Lo mismo que la anterior, pero grises, con centro elevado más obscuro
Consistencia de las colonias	Blanda; se pliegan con la aguja	Resistentes a la aguja; fracturas	Intermedia entre *mitis* y *gravis*
Aspecto del desarrollo en caldo	Suspensiones uniformes; posteriormente película blanda	Película o granular y coposo	Turbiedad finamente granular, líquido superpuesto claro sobre el sedimento
Actividad hemolítica en placas de agar-sangre	Hemolítico	Variable	No hemolítico
Fermentación del almidón y glucógeno	Negativa	Positiva	Negativa
Poder patógeno para los cobayos	10-20% no patógeno para los cobayos, pero patógeno para los ratones	Las cepas no patógenas son raras; poder patógeno moderado para los ratones	10% no patógeno para los cobayos; bajo poder patógeno para los ratones
Homogeneidad o diversidad antigénica	Por lo menos 5 tipos distintos	Por lo menos 5 tipos por aglutinación; tipos I y II tienen colonias en forma de margarita	Dos tipos con antígenos específicos

Morton (1940a) comparó sus formas de colonias en cepas *mitis* y *gravis* aisladas por los investigadores ingleses (véase tabla precedente) y comprobó que S = *mitis*, SR = *gravis* y posiblemente *intermedius* = sR. Según Mueller y Miller (1946) las cepas *minimus* aisladas por Frobisher y colaboradores en Baltimore (1945) pertenecían al grupo europeo de *intermedius*. Las cepas *intermedius* eran capaces de producir colonias D en cultivo artificial (Christison, 1933). Las verdaderas formas R derivadas

por variación en medios artificiales no han sido aisladas aún de material clínico. Los microorganismos en las colonias R son filamentosos, se tiñen intensamente y con frecuencia presentan ramificaciones (Morton, 1940a).

La estabilidad de *mitis* (S), *gravis* (SR) e *intermedius* (sR) (Carter, 1946) favorece la opinión de McLeod (1943), según la cual deben ser considerados como subespecies. Sin embargo, como McLeod y sus colaboradores han comprobado que el 7,6 por ciento de portadores tienen cepas atípicas que no se pueden clasificar como *mitis*, *gravis* o *intermedius*, preferimos suponer que *C. diphtheriae* sea una bacteria que cambia lentamente pero de manera constante, con ciertos tipos bien definidos y otros intermedios que los unen a todos (Hadley, 1937).

Metabolitos bacterianos. Los metabolitos no tóxicos de *C. diphtheriae* no han sido muy estudiados. Diversos observadores encontraron porfirinas (Eaton, 1938) y cantidades relativamente grandes de coproporfirina III han sido aisladas de los filtrados de cultivos (Gray y Holt, 1947). Se produce una *catalasa* en cantidad que varía con la concentración de hierro del medio.

En los cuerpos de los bacilos diftéricos se encuentran *endotoxinas* de baja toxicidad. Frobisher y colaboradores (1947) investigaron las endotoxinas de ciertas cepas aisladas de casos clínicos de difteria pero que no producían exotoxina en los cultivos y eran avirulentas para los cobayos. Se produjo una parálisis peculiar, acompañada de signos de neuritis periférica, después de inocular intracerebralmente ratones con estas cepas vivas no toxógenas. Los conejos y cobayos inmunizados contra los organismos permanecían Schick-positivos y no tenían antitoxina demostrable en su sangre aunque sí aglutininas de bajo título.

Exotoxina. La mayor parte de nuestros conocimientos básicos acerca de las exotoxinas han sido adquiridos a través de numerosos estudios de la exotoxina producida por *C. diphtheriae*. Este trabajo empezó con el descubrimiento de la exotoxina por Roux y Yersin en 1889 y continúa en el momento presente. La toxina puede separarse de los cuerpos de los bacilos que la producen, pasando el caldo de cultivo por filtro de Chamberland. También se puede recoger la toxina de los cuerpos de los bacilos vivos por disgregación del organismo con vibraciones sónicas (Morton y González, 1942).

Hombres, conejos, cobayos, perros, gatos y caballos son muy sensibles a la toxina, pero las ratas y ratones son relativamente resistentes. La toxina es mortal cuando se inyecta, pero se toleran sin peligro grandes dosis por vía oral. Parece actuar como veneno protoplasmático general, pero con afinidad específica por el tejido nervioso, especialmente el vago, el frénico y nervios craneales y periféricos. Tanto el músculo cardíaco como sus nervios intrínsecos son afectados por la toxina; también produce hemorragia y necrosis tanto en la medula como en la corteza de las glándulas suprarrenales.

La producción de una exotoxina potente es de la mayor importancia en la manufactura de los diversos productos biológicos relacionados con la difteria. Quizá la mejor cepa conocida productora de toxina es la Nº 8, aislada por Park y Williams en 1896. Este organismo no era especialmente virulento para los cobayos, pero resultó excelente productor de toxina. Morton (1940a) comprobó que la cepa Park Nº 8 se estabilizó en fase intermedia entre las formas S y R (sR). Por diversos procedimientos logró la variación del cultivo en cepas S, D y G. Todas las formas, menos la G, que no pudo ser ensayada, fueron aglutinadas por un suero preparado por inyección de vacunas hechas de la cepa madre original. Una cepa S era avirulenta y no produjo exotoxina. Las S, SR y D elaboraban exotoxina, pero en cantidad variable. Se ha observado ocasionalmente disminución espontánea o pérdida completa de la capacidad

de producir toxina, en subcultivos de organismos que originalmente eran buenos productores de toxina (Crowell, 1926; Cowan, 1927).

Aunque *C. diphtheriae* se desarrolla en medio con pH de 5,7 a 8,7, la producción de toxina solamente se obtiene cuando el organismo es cultivado entre pH 7,5 y 8,2. Es esencial un abundante suministro de oxígeno para una buena producción de toxina; de ordinario los organismos son cultivados en la superficie de capas delgadas de medio líquido en frascos planos. Aunque cualquiera puede obtener alguna toxina por desarrollo de *C. diphtheriae* en medios adecuados, la producción comercial de toxina potente ha sido siempre un procedimiento muy empírico, mejor un arte que una técnica científica.

Una serie de estudios de laboratorio por diversos investigadores ha hecho mucho para simplificar y normalizar la producción de toxina (Eaton, 1938; Pappenheimer y Johnson, 1936; Pappenheimer y Robinson, 1937). Ahora se puede preparar toxina diftérica potente en un medio simple compuesto de caseína hidrolizada, ácidos nicotínico y pimélico, cistina, maltosa, calcio y hierro (Mueller y Miller, 1946). Tuvo gran importancia el descubrimiento por Pappenheimer y Johnson de que el máximo de producción de toxina sólo ocurre cuando hay deficiencia de hierro en el medio. Mueller (1941) cree que puede ser necesaria una enzima que contenga hierro para el metabolismo del bacilo y que en caso de faltar hierro la toxina se acumula como un producto intermediario del metabolismo o funciona como parte de un sistema enzimático. Pappenheimer (1937) aisló una proteína coagulable por el calor, de peso molecular alrededor de 72 000 y 10 000 D. L. M. cobayo por miligramo de toxina. Sólo tenía 0,0005 mg de nitrógeno por unidad floculante (L_f). Aunque no se dedujo la fórmula, las preparaciones más puras contenían cerca de 16% de nitrógeno, 0,75% de azufre, 9% de tiroxina y el 1,4% de triptófano. El punto isoeléctrico era a pH 4,1.

La toxina diftérica es muy inestable; se destruye o modifica por calentamiento a 60° C. Se destruye fácilmente por exposición a la luz o por oxidación. La toxina bruta recién filtrada suele conservarse en lugar frío y obscuro de uno a dos meses para permitir la *maduración*. Lo toxina madura es algo más estable; concentrada y seca puede resistir temperaturas de 70° C.

La toxina madura se valora cuidadosamente por una serie de pruebas. La dosis letal mínima para el cobayo (D. L. M.) es importante como unidad; debe ser conocida para valorar la toxina usada en la *reacción de Schick. La D. L. M. es la cantidad mínima de toxina que, por inyección subcutánea, mata a un cobayo de 250 g al cuarto día.*

La toxina diftérica es un antígeno excelente; cuando se inyecta a los animales en dosis subletales, da lugar a la producción de una antitoxina específica.

Como se indica en el Capítulo XIV, la toxina diftérica, además de las moléculas tóxicas, contiene números variables de moléculas modificadas no tóxicas llamadas *toxoides*, innocuas para el animal, pero que se pueden combinar con las moléculas de antitoxina y hacerlas inactivas. Como estas moléculas de *toxoide* se combinan con la antitoxina, su poder de inmunización se puede medir por la prueba de floculación de Ramón en unidades L_f, según se indicó en el Capítulo XIV. La conservación de la toxina da lugar a la formación de cantidades crecientes de toxoide.

Afortunadamente, la antitoxina es mucho más estable que la toxina. Una unidad de antitoxina tipo sirve como base para la valoración de toxinas y antitoxinas producidas por las casas comerciales. La uniformidad en los productos se mantiene por el suministro periódico de muestras a los productores comerciales. La *unidad de antitoxina* es la cantidad de antitoxina equivalente a la unidad tipo de antitoxina

preparada originalmente por Ehrlich y conservada en Washington, D. C. La valoración de la toxina y la antitoxina diftérica se expone en el Capítulo XIV.

Toxoides. Las moléculas de *toxoide* no tóxicas que aumentan en número al envejecer la toxina diftérica pueden tener propiedades inmunizantes, pero no hay método práctico de separarlas de la toxina. Ramón descubrió en 1923 que el formol reaccionaba con la toxina diftérica y producía un producto que era completamente atóxico, pero que retenía su capacidad de estimular la formación de antitoxina. Este toxoide, o *anatoxina*, como los franceses prefieren llamarla, se normaliza en unidades L_f y se usa para la inmunización activa.

Si se añade al toxoide líquido suficiente alumbre de potasio hasta concentración de 1 ó 2%, se forma un precipitado que contiene todos los productos inmunizantes. El precipitado se vuelve a suspender en solución salina fisiológica y se vende como *toxoide precipitado por alumbre* (Glenny y col., 1926; Barr y col., 1941). El toxoide precipitado por alumbre permanece en el tejido subcutáneo durante largo tiempo y, a dosis equivalentes es netamente superior al toxoide líquido como agente inmunizante.

En 1945, Parfentjev y Goodline describieron un método de purificación de la toxina bruta original por absorción tanto de las proteínas bacterianas no tóxicas como de las proteínas contenidas en el medio. Una L_f de la toxina purificada correspondía solamente a 0,0005 mg de nitrógeno. Se requerían muy pequeñas cantidades de alumbre para precipitar esta toxina purificada. El producto resultante dió menor reacción local cuando se inyectaba subcutáneamente, pero resultó ser un antígeno excelente para estimular la producción de antitoxina.

Ross (1944) introdujo el toxoide con protamina, que en los adultos da menor número de reacciones desfavorables que el toxoide líquido más antiguo y los toxoides precipitados por el alumbre (Ross y col., 1946). En teoría, el toxoide puro precipitado por alumbre de Parfentjev debe ser superior al toxoide protamina.

Diversas substancias, como bilis, colesterol, lanolina y ácido ascórbico (vitamina C) destruyen la toxina diftérica en el tubo de ensayo. Sin embargo, los intentos de tratar la difteria con ácido ascórbico no han tenido éxito.

Estructura antigénica. Hoyle (1942) extrajo de *C. pseudodiphtheriticum* y *C. diphtheriae* antígenos solubles en alcohol que contenían lipoides. Por fijación del complemento se demostró un grupo antigénico común en *C. pseudodiphtheriticum* y en cepas *gravis* e *intermedius* de *C. diphtheriae*. En las cepas *mitis* había cantidades mucho menores de este antígeno común. El tipo *mitis* tenía también un antígeno específico que se encontraba en pequeñas cantidades en los *gravis* e *intermedius*.

Los primeros intentos para clasificar los bacilos diftéricos por reacciones de aglutinación no dieron resultado. Ewing (1933) separó 106 cepas *gravis* en cuatro tipos. Posteriormente, Robinson y Peeney (1936) estudiaron 739 cepas del tipo *gravis* y las separaron en cinco tipos antigénicos que designaron como tipos I, II, III, IV y V. Los tipos I y II tenían las características de cultivo de las cepas *gravis* indicadas en la tabla anterior. Los tipos III, IV y V tenían aspecto algo diferente de *gravis* típicos y algunos se parecían a las cepas *mitis*. Los tipos I y III eran los más comunes en la Gran Bretaña; el II se encontraba en todo el mundo; el tipo IV fué el único encontrado en Egipto, y el V sólo se observó en Estados Unidos.

Los tipos *mitis* e *intermedius* han sido investigados de manera menos completa. Parece haber por lo menos cinco tipos antigénicos de *mitis* y dos de *intermedius* (Ewing, 1933).

Con la pérdida de los antígenos específicos de tipo aparecen aglutinaciones cruzadas (Neill y colaboradores, 1931) y las reacciones de fijación del complemento

muestran relaciones con los bacilos difteroides y aun los tuberculosos (Krah y Witebsky, 1930).

La virulencia de una cepa de *C. diphtheriae* se caracteriza principalmente por la capacidad de sintetizar la exotoxina; como la producción de toxina no está siempre específicamente ligada con la forma de la colonia o con la estructura antigénica, una clasificación simple de los bacilos del grupo *Corynebacterium diphtheriae* parece difícil.

El descubrimiento de Pappenheimer y sus colaboradores, de que la producción de exotoxina podía modificarse haciendo variar la concentración de hierro en el medio, abrió nuevos campos para la investigación. En presencia de hierro en concentraciones mucho menores que las teóricamente existentes en el cuerpo, se produjeron muy pequeñas cantidades de exotoxina. Estudiando los síntomas clínicos y el curso de la enfermedad en el hombre, Mueller (1941) ha estimado que se producen relativamente pequeñas cantidades de exotoxina *in vivo* en contraste con la rica síntesis que tiene lugar en medios adecuados. Mueller (1941) ha comparado la producción de exotoxina por cepas *gravis* con la de otras cuando se desarrollan en medios que contienen cuatro microgramos de hierro por centímetro cúbico de cultivo líquido. En estas condiciones, una cepa *gravis* aislada durante la epidemia en Halifax (Nueva Escocia) sintetizó alrededor de diez veces más toxina que las otras. Este carácter biológico sería suficiente para explicar la virulencia de este tipo de difteria que ocurrió en adultos e individuos previamente inmunizados con toxoide y que se caracterizó por intoxicación grave y por la necesidad de emplear cantidades mucho mayores de antitoxina para lograr éxito en el tratamiento. Si se admite que tal cepa *gravis*, excelente productora de toxina, puede también adquirir ciertas combinaciones de otras propiedades, como las incluídas en el término general de *transmisibilidad*, cabe suponer que así se darían las circunstancias para una pandemia de difteria virulenta.

Enfermedad experimental en los animales de laboratorio. Los cobayos, ratas, perros y palomas son muy sensibles a las inyecciones subcutáneas de exotoxina y cultivos vivos de *C. diphtheriae*. Los conejos son algo más resistentes y las ratas y ratones son relativamente refractarios a la infección experimental. Con frecuencia se observan parálisis en perros y palomas.

Las investigaciones de Brooks (1933) en nuestro laboratorio no confirmaron la creencia popular de que los gatos albergan bacilos diftéricos virulentos y, por lo tanto, pueden infectar a los niños.

Cuando se inyectan intracerebralmente en ratones, tanto la endotoxina como la exotoxina producen un tipo característico de parálisis acompañada de neuritis periférica. El efecto de la exotoxina (no el de la endotoxina) se neutraliza por una dosis profiláctica de antitoxina (Frobisher y Parsons, 1940; Frobisher y colaboradores, 1947).

Frobisher, Parsons y T'ung (1942) observaron que los pollos jóvenes son muy sensibles a los bacilos diftéricos virulentos y sus toxinas y pueden utilizarse en lugar de cobayos en las pruebas de virulencia. Por el contrario, T'ung (1945) comprobó que tanto las cepas virulentas como las avirulentas podían desarrollarse en la membrana corioalantoides del embrión de pollo formando seudomembranas histológicamente típicas.

Pruebas de virulencia. Como se indicó en la sección sobre exotoxina, el cobayo es indispensable en la valoración de toxinas y antitoxinas. Este animal es igualmente útil para determinar la virulencia de una cepa particular de *C. diphtheriae* y para establecer su identidad si la morfología y los caracteres de las colonias son atípicos.

Cuando de la garganta de un convaleciente, o de un individuo sano sospechoso de ser portador, se aíslan organismos morfológicamente semejantes a los diftéricos, es esencial determinar si son o no productores de toxina. Se seleccionan dos cobayos de 250 g. A un animal se le suministra una dosis protectora de 250 unidades de antitoxina y 12 a 24 horas después se inyectan a ambos cobayos subcutáneamente 2 c.c. de cultivo de 48 horas en caldo o caldo líquido ascítico. Si los organismos son virulentos el animal no protegido morirá dentro de 3 a 5 días y el cobayo protegido sobrevivirá. Si se ponen las inyecciones intracutáneamente, como ha propuesto Neisser, se pueden probar hasta seis cultivos diferentes en dos cobayos. Algunos investigadores han encontrado este método rápido y seguro (Zingher y Soletsky, 1916; Force y Beattie, 1922; Kelly y Porter, 1923; y Bayne-Jones, 1928). Para determinar la virulencia por este *método del cultivo*, la totalidad del desarrollo de 18 a 24 horas en medio inclinado de Löffler se emulsiona en 5 c.c. de solución salina fisiológica, se inyecta intracutáneamente a un cobayo normal 0,1 c.c. de la emulsión y la misma cantidad a otro previamente protegido por la inyección intraperitoneal de 250 unidades de antitoxina. Si los bacilos diftéricos son virulentos se producirá inflamación y necrosis dentro de 24 a 48 horas a nivel de la inoculación del cobayo no protegido, pero no en el animal que recibió la dosis protectora de antitoxina. Si en un cultivo de la garganta hay estafilococos, estreptococos y otros microorganismos virulentos, aparecerán lesiones en ambos animales. El resultado no debe considerarse negativo, sino como dudoso cuando la prueba es equívoca por la acción de los cocos piógenos. Debe repetirse utilizando un cultivo de los bacilos sospechosos de diftéricos purificados por resiembra.

Tipos clínicos de infección en el hombre. En el hombre aparecen lesiones locales y los bacilos diftéricos desarrollados en ellas sintetizan la exotoxina, que es absorbida por el organismo dando lugar a *intoxicación general*.

Los bacilos se desarrollan rápidamente cuando se implantan en las mucosas de la nariz y garganta; con frecuencia dentro de las 24 horas se forma localmente una *seudomembrana*, por lo general de color blancogrisáceo, pero en ocasiones amarillenta o negrorrojiza. Está esencialmente formada por un exudado fibrinoso que aprisiona entre sus mallas a los bacilos y a numerosos tipos de células en diversos estados de viabilidad y necrosis. La membrana está firmemente adherida a los tejidos subyacentes y se separa con dificultad, dejando una superficie descarnada con pequeñas zonas hemorrágicas. Suele haber una estrecha zona de aspecto rojo púrpura mate que rodea la seudomembrana, pero el resto de la mucosa de la garganta aparece normal. Esta falsa membrana se presenta con la mayor frecuencia sobre *amígdalas, faringe, laringe* y en la *nariz*. Rara vez se observa la difteria localizada en la lengua o en la porción anterior de la boca. En ocasiones las infecciones diftéricas tienen lugar en la piel y en *heridas de guerra*, en el ombligo del recién nacido, en el pene después de la circuncisión y en las mucosas del *cuello uterino* y de la pared de la *vagina* después del parto. También se han presentado lesiones diftéricas en la mucosa del estómago.

El *oído medio* se puede infectar por extensión directa a través de las trompas de Eustaquio. La extensión directa o la aspiración de partículas de membrana desde la laringe puede causar infección en los pulmones. La difteria de las *conjuntivas* suele ser secundaria a la infección de la nasofaringe, pero es una de las infecciones oculares más peligrosas; ocupa el segundo lugar después de la causada por el gonococo.

Las seudomembranas, especialmente las de la laringe y tráquea, son peligrosas en los niños pequeños, porque pueden producir obstrucción mecánica completa de

las vías respiratorias. La difteria inicial, en contraste con las otras infecciones de las vías respiratorias superiores, suele ser una enfermedad sorprendentemente leve, a menos que aparezcan síntomas de obstrucción. Durante los primeros días de la infección la garganta no es particularmente dolorosa, sólo hay fiebre ligera sin síntomas generales intensos. Esta falta de síntomas es característica de la difteria en el adulto y resulta especialmente peligrosa cuando la infección ocurre en la nariz. En tales casos, la persona infectada puede no tener síntomas hasta que se haya absorbido exotoxina suficiente para causar daño irreparable en otras partes del organismo.

El cuadro clásico no siempre se presenta. La difteria puede ocurrir sin el desarrollo de una seudomembrana, o se puede producir una seudomembrana, idéntica a la diftérica, por estreptococos o por la simbiosis fusoespirilar de la *angina de Vincent.* Deben prepararse frotis que se teñirán por el método de Gram para descubrir los estreptococos, y por el violeta de genciana para descubrir los bacilos fusiformes y las espiroquetas de la angina de Vincent. Son frecuentes las infecciones simultáneas con estreptococos y *C. diphtheriae;* ello obliga a hacer frotis y cultivos en todo paciente con infección de garganta.

En los primeros intentos para inducir inmunidad activa contra la difteria, se inyectaba subcutáneamente una mezcla de toxina y antitoxina insuficientemente neutralizada. De ordinario resultaba una inmunidad activa efectiva, pero en algunos casos ocurrieron tragedias por los errores cometidos en la titulación o por la disociación de la toxina y antitoxina como resultado de la refrigeración. Por estos accidentes desgraciados se supone que, en peso, el hombre es aproximadamente diez veces más sensible a la toxina diftérica que el cobayo.

La toxina se absorbe desde las lesiones locales, circula por la sangre y una vez que ha llegado a fijarse permanentemente en los tejidos, no puede ser desplazada por la antitoxina. Los nervios craneales y periféricos son muy sensibles a la toxina. La voz adquiere tono nasal y los líquidos pueden ser regurgitados por la nariz como resultado de la parálisis del velo del paladar. El pulso se hace rápido por el efecto de la toxina sobre el corazón y el paciente puede morir por colapso vasomotor periférico antes que se puedan demostrar lesiones del corazón. Puede haber una disminución del poder de acomodación de los ojos, reflejos exagerados seguidos por disminución de los patelares y dolor a nivel de los troncos nerviosos. En cualquier momento, entre la tercera y décima semana de la enfermedad, pueden aparecer parálisis de diversos grupos musculares, como los de la deglución, respiración y de las extremidades. El efecto de la toxina sobre el corazón no suele manifestarse antes del noveno día de la enfermedad, pero puede ocurrir la muerte repentina por insuficiencia cardíaca en cualquier momento durante las seis a diez semanas siguientes.

Transmisión. La difteria es la enfermedad ideal para el estudio de los principios de higiene pública y medicina preventiva. Se dispone de medios para aislar los microorganismos de los pacientes y de los portadores sanos. La sensibilidad de un individuo o de toda una comunidad, se puede determinar por la reacción de Schick. El grado de inmunidad se puede estimar por la reacción de Schick o por titulación de la antitoxina presente en la sangre. La inmunización activa se puede llevar a cabo en toda una población por inyecciones de toxoide, y su eficacia se puede determinar por reacciones de Schick sin esperar a la exposición de los individuos a las dosis desencadenantes de bacilos en condiciones naturales. Finalmente, la antitoxina comercial se puede suministrar para inmunización pasiva con fines profilácticos y terapéuticos.

Reacción de Schick. En 1913, Schick creó el método de inyectar cantidades mínimas de toxina diftérica en la piel para determinar la sensibilidad a la toxina,

lo cual, desde el punto de vista práctico, significa susceptibilidad a la difteria. Se emplea para la prueba de Schick toxina diftérica diluída en solución salina fisiológica, de modo que 0,1 c.c. contiene 1/50 D. L. M. Esta dosis de 0,1 c.c. se inyecta intracutáneamente, casi siempre en la piel del antebrazo. Una reacción positiva se caracteriza por el enrojecimiento e induración que aparece después de 24 a 36 horas y persiste durante cuatro días o más. Si la sangre del individuo tiene 1/500 a 1/250 o más de unidad de antitoxina por c.c., la toxina inyectada se neutraliza y no se produce reacción. Una reacción negativa indica que existe la antitoxina suficiente para proteger al individuo contra la infección con bacilos diftéricos, aunque éste puede albergar bacilos virulentos en su nariz o garganta. Siempre debe efectuarse una reacción *testigo* en el brazo opuesto, usando una parte de la toxina diluída que haya sido calentada a 80° C. durante cinco minutos. El calentamiento destruye las propiedades tóxicas pero no daña las substancias de los bacilos diftéricos o del medio en el cual se ha producido la toxina, los cuales causan reacciones en algunos individuos. La reacción a estos materiales no tóxicos suele alcanzar el máximo tamaño 24 horas después de la inyección y desaparece durante el cuarto o el quinto día. Si la reacción al material testigo sigue un curso paralelo al de la toxina en tamaño y duración, la prueba se registra como *Schick negativa*. Si la reacción a la toxina no calentada es por lo menos el 50 por ciento mayor y persiste más que la prueba testigo, el individuo es *susceptible a la toxina* y *alérgico* para las substancias contaminantes; tal reacción se interpreta como *Schick positiva*.

Inmunidad en los niños. En las zonas urbanas, la mayor parte de las madres han tenido difteria clínica o subclínica y su antitoxina es transferida pasivamente al niño *in utero*. Park y Zingher (1915) comprobaron que el 93 por ciento de los recién nacidos eran Schick negativos e inmunes a la difteria durante los 3 a 12 primeros meses de vida. La toxina transferida de esta manera pasiva desaparece lentamente y hacia el final del primer año de vida casi todos los niños son Schick positivos y, por tanto, susceptibles a la enfermedad. La mayor parte de estos niños, todavía no inmunizados con toxoides, se hacen gradualmente Schick negativos por tener difteria subclínica o manifiesta. Hace veinte años, el 90 por ciento o más de los adultos eran Schick negativos e inmunes. En consecuencia la difteria era una enfermedad de la infancia. Con la mejora de las condiciones generales de vida, del diagnóstico, del aislamiento y del tratamiento, un número cada vez mayor de adultos escapan a este proceso de inmunización natural y quedan sensibles a la difteria. Aun la inmunización profiláctica en los niños puede no persistir en la edad adulta si el individuo no recibe periódicamente dosis estimulantes de bacilos virulentos por posibles contactos con casos clínicos o con portadores. En algunas comunidades más del cincuenta por ciento de los casos nuevos ocurren en adultos (fig. 63) (Thelander, 1940). El número mayor de adultos sensibles en la población ha tenido por resultado el que un porcentaje mucho más bajo de recién nacidos sean inmunes durante los primeros años de vida.

La difteria tiene una frecuencia estacional, con máximo en los meses de invierno, como puede verse en la figura 64. Sobrepuestas a las variaciones estacionales están las epidemias que ocurren con intervalo de 5 a 10 años (fig. 59). Excepto por las variaciones ondulantes, la frecuencia de la difteria en los Estados Unidos ha mostrado una declinación gradual en los últimos 30 años. Al comienzo de este período, la proporción de casos y la mortalidad eran mayores en la parte noreste más industrializada del país. Desde entonces la inmunización profiláctica ha sido aplicada en esta zona con entusiasmo y tesón y los Estados del noreste son los que actualmente tienen menos casos de difteria. Hoy por hoy la proporción mayor se observa en los

Estados montañosos y del sureste donde la profilaxis comenzó más tarde y se aplicó menos vigorosamente (Frobisher, 1942; Collins, 1946; Anderson, 1947).

En Europa comenzó una epidemia de difteria maligna antes de la guerra y aumentó grandemente por las condiciones inherentes a la misma. En 1943 se regis-

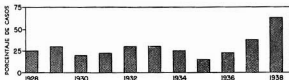


FIG. 63. DIFTERIA EN SAN FRANCISCO DESDE 1928 A 1938.

A medida que los casos de difteria en San Francisco disminuían entre 1928 y 1938 (fig. 65) aumentaba el porcentaje de casos en los individuos mayores de 15 años. (Según Thelander, H. E., *Am. J. Dis. of Child.*, 1940, 59:342.)

traron 630 000 casos de difteria en Europa, excluyendo a Rusia; en este país, Stowman (1945) ha calculado que hubo por lo menos un millón de casos durante el año de 1944 solamente. Los porcentajes de aumento en los diferentes países europeos variaron grandemente. La proporción de la preguerra se multiplicó por 2,3 en Fran-

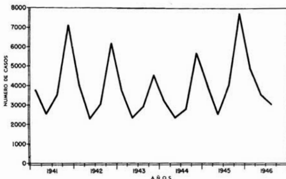


FIG. 64. FLUCTUACIONES ESTACIONALES DE LA DIFTERIA EN ESTADOS UNIDOS DESDE 1941 A 1946. (De los datos de Anderson, *Am. J. Pub. Health*, 1947, 37:1.)

cia, 3,1 en Alemania, 4,1 en Suecia, 7,7 en Bélgica, 14 en Holanda y 24 en Noruega (Collins, 1946). Aunque las cepas *gravis* más virulentas invadieron la Gran Bretaña, un programa intensivo de inmunización en ese país redujo la frecuencia de la difteria en más del cincuenta por ciento durante los años de guerra; mientras que

en el sur de Holanda, que estaba poco afectada por la guerra, hubo un aumento de 2 000 casos en 1940 y por encima de 5 000 en 1944 (Anderson, 1947).

El problema de la difteria en los Estados Unidos y por todo el mundo depende ampliamente de factores locales. La proporción de atacados, la mortalidad, el

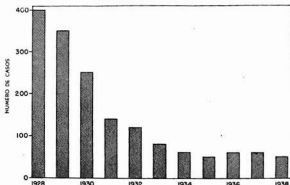


FIG. 65. DISMINUCIÓN DEL NÚMERO DE CASOS DE DIFTERIA EN SAN FRANCISCO DESDE 1928 A 1938. (Según Thelander, H. E., *Am. J. Dis. of Child.*, 1940, 59:342.)

porcentaje de portadores de organismos virulentos y los tipos de organismos albergados, varían de una comunidad a otra en el mismo Estado (Frobisher, 1942) (figura 65).

El portador. Los convalecientes de difteria suelen quedar libres de sus bacilos espontáneamente en dos a cuatro semanas, aunque un pequeño porcentaje de ellos lleguen a ser portadores crónicos. Como regla general, los individuos sanos expuestos al contacto con casos de difteria adquieren los bacilos, pero no suelen albergarlos por más de unos días o semanas; sin embargo, algunas personas parecen incapaces de eliminarlos. Cuando se descubre un portador, debe practicarse inmediatamente una *prueba de virulencia* para suprimir el aislamiento de los individuos que albergen organismos avirulentos sin peligro para la comunidad. Los portadores de organismos virulentos constituyen una amenaza neta y es extraordinariamente difícil librarlos de sus bacilos. Casi todos los tipos conocidos de sueros, vacunas y antisépticos han sido ensayados sin éxito, así como el aerosol de penicilina (Paull y colaboradores, 1946). Los mejores resultados se han obtenido por la corrección de las lesiones patológicas de la nariz y garganta, extrayendo amígdalas infectadas, adenoides y corrigiendo los tabiques desviados drenando los senos. La exposición a la luz del sol y el mejoramiento de la dieta son excelentes métodos suplementarios.

El porcentaje de portadores en la población varía de un año a otro, según factores como la estación del año y el tipo de comunidad. Doull y Fales registraron en 1923 una proporción de portadores de 2,32 por ciento en los escolares en Baltimore durante los meses de noviembre y mayo. Frost (1928) estimó que tal por-

centaje de portadores era suficiente para suministrar un número de portadores bastante para exponer al 99 por ciento de la población cada quince años. Dudley (1932) registró una proporción de portadores 6,6 por ciento en una escuela de jóvenes; se ha encontrado hasta del 17 por ciento en algunas unidades militares. La proporción de portadores de organismos virulentos y avirulentos varía también de una a otra zona, como lo hace el porcentaje de *mitis*, *gravis*, *intermedius* y cepas no clasificadas (McLeod, 1943; Frobisher, 1942-45-47; Carter, 1946). Frobisher (1947) publicó algunos datos epidemiológicos y de laboratorio que sugieren la posibilidad de que cepas no toxógenas pueden tener propiedades inmunizantes. Sus investigaciones con cepas de bacilos diftéricos recogidas de todas partes de los Estados Unidos demuestran que el tipo *mitis* es el predominante, el *intermedius* es raro y el tipo *gravis* prevalece solamente en áreas localizadas (Frobisher, 1942-45). No hay pruebas convincentes de que la cepa altamente virulenta de tipo *gravis* predominante en Europa, haya invadido los Estados Unidos.

Cuando se hacen cultivos para descubrir portadores, el material debe recogerse tanto de la nariz como de la faringe y sembrarse en medio de Löffler y en un medio de telurito.

Productos biológicos. Se dispone de excelentes productos biológicos para estudiar todas las fases del problema de la difteria.

La *toxina* misma se usa en la reacción de Schick para determinar la susceptibilidad o la enfermedad. Se dispone de *toxoide líquido, toxoide precipitado por alumbre, toxoide protamina* y *toxoide purificado* para inmunización activa. La mezcla *toxina-antitoxina* es un agente inmunizante eficaz, pero no debe usarse porque sensibiliza algunos individuos al suero de caballo. La mezcla de toxoide diftérico, toxoide tetánico y antígeno pertussis, es teóricamente ideal para la inmunización de los niños pequeños.

Se dispone de *antitoxina* refinada y concentrada para inmunización pasiva profiláctica de los individuos expuestos y para tratamiento activo del enfermo diftérico.

Tratamiento. La antitoxina diftérica en cantidades adecuadas constituye el único tratamiento específico y eficaz de la difteria. Dos hechos biológicos deben tenerse constantemente presentes: primero, la rapidez con la cual el toxoide se fijó en los tejidos del sistema nervioso y, segundo, la lentitud de absorción de la antitoxina inyectada en el tejido subcutáneo.

Aunque la toxina diftérica no se combina tan rápidamente con el tejido nervioso como la toxina tetánica, no puede ser desplazada por la antitoxina una vez que se fija (Schick, 1910). Los experimentos de Park y sus colaboradores (1932) demostraron que los conejos no sucumbían a diez dosis mortales de toxina diftérica si se inyectaban dosis relativamente pequeñas de antitoxina junto con la toxina, o inmediatamente antes de que ésta fuera administrada. Conforme el intervalo entre la inyección de la toxina y de la antitoxina se prolongaba, eran necesarias dosis rápidamente crecientes de antitoxina y un retraso de una hora o más antes del tratamiento daba lugar a la muerte del animal, independientemente de la cantidad de antitoxina inyectada. Se sabe que la concentración máxima de antitoxina en sangre no se alcanza hasta unas 73 horas después de la inyección cutánea. La absorción es mucho más rápida después de la inyección intramuscular; la administración intravenosa inmediatamente hace aprovechable a la antitoxina. Deben hacerse cultivos repetidos de todos los casos sospechosos de difteria en medios de Löffler y telurito. La antitoxina debe administrarse inmediatamente a todos los niños y adultos que muestren síntomas precisos de difteria, sin esperar el resultado del cultivo.

Antes de administrar la antitoxina debe probarse la hipersensibilidad del paciente para el suero de caballo con el fin de prevenir la aparición de anafilaxia. El suero normal de caballo se diluye por lo general al 1:10 en solución salina fisiológica; para la prueba oftálmica se instila una gota en la conjuntiva de un ojo y para la prueba cutánea se inyecta intradérmicamente 0,1 de c.c. Si el paciente es hipersensible al suero de caballo, la conjuntiva se enrojecerá en 15 a 30 minutos. En la prueba cutánea aparece en el sitio de la inyección una pápula con seudópodos rodeada por una zona de eritema. En la mayor parte de los casos la inyección cutánea desaparece espontáneamente en unos 30 minutos y el ojo se restablece con una gota de adrenalina. Si se obtienen pruebas de hipersensibilidad positivas, el paciente debe ser desensibilizado por el método descrito en el Capítulo XVI. La antitoxina misma no puede substituir al suero normal de caballo en las pruebas cutánea y oftálmica, debido a la presencia de productos de desintegración proteínica en los sueros refinados modernos que pueden dar reacciones positivas falsas. La antitoxina, sin embargo, puede ser utilizada en el proceso de desensibilización.

Los niños que se sabe que padecen asma, eczema u otros trastornos alérgicos deben estudiarse y tratarse con la mayor precaución porque la mayor parte de las muertes que se conocen por choque anafiláctico han ocurrido en pacientes de este tipo. Se debe disponer de una jeringa llena de solución de adrenalina junto a la cama del enfermo desde el comienzo de la reacción cutánea hasta varias horas después de administrar la última inyección.

La dosis de antitoxina depende de factores como la duración de la enfermedad e intensidad de los síntomas. Una dosis de 5 000 unidades el primer día de la enfermedad es más eficaz que una de 10 000 unidades en el cuarto o quinto día. En los niños, los casos leves responden satisfactoriamente con 3 000 a 5 000 unidades; los moderadamente graves, con 5 000 a 10 000 unidades; y las infecciones graves con 10 000 a 20 000 unidades de antitoxina. Para los adultos 5 000 a 10 000 unidades son suficientes en los casos leves, pero se deben dar 20 000 o más en los pacientes gravemente enfermos. En los casos moderados y graves, aproximadamente el 50 por ciento de la dosis total debe administrarse por vía intravenosa.

Aunque la *penicilina* mata a *C. diphtheriae*, no tiene acción sobre la exotoxina ni puede substituir a la antitoxina. La penicilina está indicada cuando hay una infección secundaria de la garganta o pulmones con cocos piógenos u organismos de Vincent.

Prevención. Los niños recién expuestos a la difteria se pueden proteger durante dos o tres semanas por inyección de 1 000 a 3 000 unidades de antitoxina. Esta inmunidad pasiva es de corta duración y se pierde al desaparecer de los tejidos las globulinas del suero de caballo. El niño entonces es tan susceptible a la difteria como lo era antes de recibir la antitoxina.

La inmunización activa es la llave de la prevención de la difteria. La inmunización debe empezar en la infancia. Los niños de seis a ocho meses de edad desarrollan antitoxinas más rápidamente que los más jóvenes, pero una revisión de los datos (figura 52) y los comentarios hechos a propósito de la profilaxis de la tos ferina en el Capítulo XXIII indican que entre el segundo y tercer mes de la vida los niños deben inmunizarse activamente con la mezcla compuesta de toxoide diftérico, toxoide tetánico y antígeno pertussis. Si las inyecciones se repiten a la edad de un año, se establecerá probablemente una inmunidad suficiente, por lo menos durante los primeros cinco años de la vida. Dos dosis de toxoide precipitado por alumbre con tres semanas de intervalo dan tan buena o mejor inmunidad que tres dosis del toxoide líquido (Top, 1947). Ipsen (1946) ha señalado que la inmunización activa con toxoides

proporciona inmunidad completa o parcial contra las cepas *gravis* virulentas, como se demuestra por la poca gravedad de la enfermedad y la menor mortalidad en el grupo inmunizado.

Los niños pequeños rara vez presentan reacciones locales o generales a la inmunización, pero conforme se hacen mayores, un número cada vez mayor empiezan a desarrollar reacciones locales o incluso generales como resultado de la susceptibilidad adquirida a las proteínas del bacilo diftérico, las proteínas del medio o la toxina misma. Desde la edad de 15 años aproximadamente el cincuenta por ciento de los individuos darán reacciones tanto a los toxoides líquidos como a los precipitados por alumbre.

Bunch, Morrow, Timmons y Smith (1940) lograron inmunizar varios grupos de enfermeros y estudiantes de Medicina, con toxoide líquido, sin reacción desfavorable alguna. Los estudiantes con reacción de Schick positiva fueron sujetos a la *reacción de Moloney*, que consiste en la inyección intracutánea de 0,1 c.c. de una dilución de 1:100 de toxoide líquido. Los que no dieron reacción o la presentaron menor de 10 mm, sin induración, toleraron dosis de 1 c.c. de toxoide líquido sin reacción local ni general.

La inyección de dosis de 1 c.c. de toxoide líquido, o dosis menores de toxoide precipitado por alumbre, dieron síntomas locales y generales intensos en individuos con reacción de Moloney positiva. Aunque los estudios de Brandon y Fraser (1936) demostraron que el 75 por ciento de los que presentan reacción de Moloney positiva ya están inmunes, pareció interesante obtener reacciones de Schick negativas en todas las personas si ello podía lograrse sin peligro. Por repetición de la reacción de Moloney cada semana durante tres, los Schick y Moloney positivos pudieron transformarse en Schick negativos. Los individuos inmunizados por este método tuvieron excelentes títulos de antitoxina dos meses después de la última inyección (Bunch y colaboradores, 1940).

CORYNEBACTERIUM PSEUDODIPHTHERITICUM (BACILO SEUDODIFTERICO)

Von Hoffmann, en el año 1888, y Löffler, casi al mismo tiempo, describieron los bacilos que habían cultivado de las gargantas de personas normales y en varios casos de difteria, que eran en muchos respectos similares al verdadero *C. diphtheriae*, pero se diferenciaban principalmente de éste en no ser patógenos para los cobayos. Estos organismos, al principio fueron considerados simplemente por algunos observadores como bacilos diftéricos atenuados. Sin embargo, investigaciones ulteriores demostraron en forma incuestionable que se trataba de especies separadas fácilmente diferenciables por métodos adecuados. Difieren de *C. diphtheriae* en tantos aspectos importantes que el término "bacilo seudodiftérico" apenas les corresponde.

Morfología y tinción. *C. pseudodiphtheriticum* es más corto y más grueso que *C. diphtheriae*. Suele ser recto, ligeramente abultado en un extremo, rara vez en ambos. Teñido con el azul de Löffler muestra en ocasiones bandas transversales no teñidas; a diferencia de *C. diphtheriae*, estas bandas apenas pasan de una o dos. En muchos cultivos una banda transversal única da al bacilo aspecto de diplococo.

Teñidos por los métodos de Neisser o Roux, no se pueden demostrar cuerpos polares. No forma esporas, es inmóvil y no tiene flagelos.

Caracteres de cultivo. En los medios comunes de cultivo *C. pseudodiphtheriticum* crece de manera más lujuriante que *C. diphtheriae* y se desarrolla aún en el primer

aislamiento desde el organismo humano sobre medios simples de extracto de carne. Sobre placas de agar, sus colonias son mayores, menos transparentes y más blancas que las de los verdaderos bacilos diftéricos. En los medios líquidos hay incluso enturbiamiento y menor tendencia a la formación de películas que con *C. diphtheriae.* Un método positivo de distinción hállase en la incapacidad de *C. pseudodiphtheriticum* para formar ácido en diversos medios azucarados. La diferenciación por la formación de ácido fué primero intentada por Cobbett y ha sido recientemente estudiada en forma sistemática por Knapp y confirmada por diversos observadores (Smith, Zinsser).

Los resultados de este trabajo llevados a cabo con el medio de agua-suero de Hiss, al que se le añaden diversos azúcares, demuestra que *C. pseudodiphtheriticum* no forma ácido en alguno de los azúcares utilizados, mientras que *C. diphtheriae* acidifica y coagula los medios que contienen monosacáridos y varios de los azúcares más complejos, como se indica en la tabla que trata de *C. xerose.*

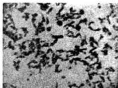
La diferenciación final puede establecerse por el poder patógeno para los animales; *C. pseudodiphtheriticum* es enteramente innocuo para los animales de laboratorio; *C. pseudodiphtheriticum* no forma toxinas; los animales inmunizados con él no poseen resistencia especial para *C. diphtheriae.*

CORYNEBACTERIUM XEROSE

En 1884 Kuschbert y Neisser descubrieron un bacilo, aislado de los ojos de personas que sufrían una forma de conjuntivitis crónica conocida como xerosis. Este bacilo, que morfológicamente es casi igual a *C. diphtheriae,* se creyó que era la causa de la enfermedad. La frecuencia con la cual se ha aislado de ojos normales excluye esta relación etiológica; puede ser considerado como saprófito innocuo, más abundante en la conjuntiva ligeramente inflamada que en la normal, pero que no tiene relación causal con la xeroftalmía.

Morfología. *C. xerose* semeja estrechamente a *C. diphtheriae.* Es en ocasiones más corto que *C. diphtheriae,* pero en conjunto no es posible una diferenciación morfológica entre los dos. No forma esporas y es inmóvil. En ocasiones pueden verse en él cuerpos polares.

Características de cultivo. En *suero sanguíneo de Löffler,* en *agar,* en *agar-glicerina* y en *caldo* su desarrollo es muy similar al de *C. diphtheriae,* pero es más delicado en todos los aspectos. No se puede cultivar fácilmente sobre medios simples de extracto de carne ni se desarrolla en gelatina a la temperatura ambiente. Sus colonias en agar-glicerinado o glucosado son microscópicamente idénticas a las de *C. diphtheriae.*


FIG. 66. CORYNEBACTERIUM XEROSE.

Diferenciación. *C. xerose* difiere de *C. diphtheriae* en la producción de ácido en medios azucarados. Estas relaciones fueron establecidas primero por Knapp para diversos azúcares y el alcohol, manitol, y han sido extensamente confirmadas por otros. La siguiente tabla demuestra que la diferenciación puede hacerse por el uso de dos azúcares, sacarosa y glucosa. *C. diphtheriae* forma ácido con la glucosa, no de la sacarosa; *C. xerose,* con la sacarosa y la glucosa, pero no de la dextrina; *C. pseudodiphtheriticum* no forma ácido con ninguna. *C. xerose* no es patógeno para los animales ni produce toxina.

Medio de Hiss (suero y agua) más 1 por ciento de	C. diphtheriae	C. xerose	C. pseudodiphtheriticum
Glucosa	+	+	—
Sacarosa	—	+	—
Dextrina	+	—	—

BACILOS DIFTEROIDES

Además de las bacterias antes mencionadas, hay un gran grupo de microorganismos designados como *bacilos difteroides*, en gran parte por su semejanza morfológica con el bacilo diftérico. Los organismos de este grupo son morfológicamente similares al bacilo diftérico, grampositivos, inmóviles, presentan con frecuencia gránulos metacromáticos y no tienen esporas. No es posible al presente formular una clasificación de estos gérmenes. Al parecer son muy numerosos y han sido aislados de gran diversidad de fuentes, tanto en relación con el organismo humano como en la Naturaleza. Bunting y Yates han sostenido que un organismo de este grupo tiene cierto papel etiológico en la enfermedad de Hodgkin. Estudios de otros muchos investigadores, especialmente Bloomfield y Fox, y los efectuados en nuestro propio laboratorio demuestran que organismos muy similares a estas especies se pueden aislar de la piel, de los ganglios linfáticos de gentes sanas y enfermas, del líquido de ascitis de diversas enfermedades y de tejidos considerados estériles. Con frecuencia se hallan en el moco nasal y en la garganta y son tan ubicuos que es poco probable que se les pueda atribuir relación ninguna con una enfermedad específica. Según las investigaciones de muchos autores que han estudiado la flora de la nasofaringe, parece que los organismos que pertenecen al grupo general de los bacilos difteroides son los saprófitos más comunes presentes en esta parte del organismo humano normal. Algunos estreptococos aparecen en formas difteroides.

Muy similares a este grupo son los bacilos de la *pseudotuberculosis ovis*, aislados por Preisz y Nocard de las lesiones necróticas de los riñones de las ovejas.

Por el momento sólo cabe señalar que los *bacilos difteroides* constituyen un gran grupo heterogéneo que se mantiene por cierta similitud morfológica y de cultivo, constituído principalmente por saprófitos y gérmenes parásitos probablemente innocuos del hombre y de los animales.

BIBLIOGRAFIA

Albers, D. D. *U. S. Nav. Bull.*, 1947, 47:33.
Anderson, G. W. *Am. J. Pub. Health*, 1947, 37:1.
Anderson, J. S., Happold, F. C., McLeod, J. W., and Thompson, J. G. *J. Path. & Bacteriol.*, 1931, 34:667.
Babes, V. *Ztschr. f. Hyg.*, 1889, 5:173.
Barr, M., Glenny, A. T., Pope, C. G., and Linggood, F. V. *Lancet.*, 1941, 2:301.
Bayne-Jones, S. *Newer Knowledge of Bacteriology and Immunology*, Chicago, 1928, Chap. 56, p. 759.
Brandon, K. F., and Fraser, D. T. *J. Immunol.*, 1936, 31:387.
Brooks, E. B. *Am. J. Dis. Child.*, 1933, 46:1338.
Brooks, R. F., and Hucker, G. J. *J. Bacteriol.*, 1944, 48:295.
Bunch, C. P., Morrow, R. C., Jr., Timmons, J. R., and Smith, D. T. *J. Immunol.*, 1940, 39:427.
Carter, H. S. *J. Path. & Bacteriol.*, 1946, 58:391.
Christison, M. H. *J. Path. & Bacteriol.*, 1933, 37:243.
Clauberg, K. W. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt., 1929, 124:539; 1931, 130:324.
———, Helmreich, W., and Vierthaler, R. W. *Klin Wochschr.*, 1936, 15:231.
Cohen, S., Snyder, J. S., and Mueller, J. H. *J. Bacteriol.*, 1941, 41:581.

COLLINS, S. D. *Pub. Health Repts.*, 1946, 61:203.
CONRADI, H., and TROCH, P. *München men. Wchnschr.*, 1912, 59:1652.
COOPER, K. E., PETERS, B. A., WISEMAN, J., and DAVIES, J. M. *Lancet*, 1939, 2:248.
COWAN, M. L. *Brit. J. Exper. Path.*, 1927, 8:6.
CROWELL, M. J. *J. Bacteriol.*, 1926, 11:65.
DOULL, J. A., and FALES, W. T. *Am. J. Hyg.*, 1923, 3:604.
DUDLEY, S. F. *J. Hyg.*, 1932, 32:193.
DUVIGNEAUD, V., DITTMER, K., HAGUE, E., and LONG, B. *Science*, 1942, 96:186.
EATON, M. D. *J. Bacteriol.*, 1936, 31, 347, 367; 1937, 33:52; 1937, 34:139.
——— *J. Immunol.*, 1936, 30:361; 1937, 33:419.
——— Recent Chemical Investigations of Bacterial Toxins, *Bacteriol. Rev.*, 1938, 2, 3.
EMILIO. *Giorn. di Bacteriol. e Immunol.*, 1938, 21:256.
ERNST, P. *Ztschr. f. Hyg.*, 1888, 4:25.
EWING, J. O. *J. Path. & Bacteriol.*, 1933, 37:345.
FORCE, J. N., and BEATTIE, M. I. *Am. J. Hyg.*, 1922, 2:490.
FROBISHER, M., JR., and PARSONS, E. I. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1940, 45:165.
FROBISHER, M., JR. *Am. J. Pub. Health*, 1942 32:709.
———, PARSONS, E. I., and T'UNG, T. *Am. J. Hyg.*, 1942, 35:381.
———, ADAMS, M. L., and KUHNS, W. J. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1945, 58:330.
———, PARSONS, E. I., and UPDYKE, E. *Am. J. Pub. Health*, 1947, 37:543.
FROST, W. H. *J. Prev. M.*, 1928, 2:325.
GLENNY, A. T., and BARR, M. *J. Path. & Bacteriol.*, 1931, 34:118.
———, BUTTLE, G. A. H., and STEVENS, M. F. *J. Path. & Bacteriol.*, 1931, 34:267.
———, HOPKINS, and POPE. *J. Path. & Bacteriol.*, 1924, 27:261.
———, POPE, C. C., WADDINGTON, H., and WALLACE, U. *J. Path. & Bacteriol.*, 1926, 29:38.
GRAY, C. H., and HOLT, L. B. *J. Biol. Chem.*, 1947, 169:235.
HADLEY, P. *J. Infect. Dis.*, 1937, 60:129.
HOBBY, G. L. *J. Infect. Dis.*, 1935, 57:186.
HOYLE, L. *J. Hyg.*, 1942, 42:416.
IPSEN, J. *J. Immunol.*, 1946, 54:325.
KELLY, J. L., and PORTER, A. *J.A.M.A.*, 1923, 81:734.
KLEBS, E. *Verhandl. d. Kong. f. innere Med.*, II Abt., Wiesbaden, 1883, 139.
KLETT, Ad. *Ztschr. f. Hyg.*, 1900, 33:137.
KRAH, E., and WITEBSKY, E. *Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therap.*, 1930, 66:59.
LÖFFLER, F. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt., 1887, 2:105; 1890.
——— *Mitt. a.d. Kaiserl. Gsndhtsamte*, 1884, 2:421.
MACLEAN, P. D., LIEBOW, A. A., and ROSENBERG, A. A. *J. Infect. Dis.*, 1946, 79:69.
MCLEOD, J. W. *Bacteriol. Rev.*, 1943, 7:1.
MORTON, H. E. *Bacteriol. Rev.*, 1940, 4:177.
——— *J. Bacteriol.*, 1940, 40:755.
——— and ANDERSON, T. F. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1941, 46:272.
——— and FRANCISCO, A. *Stain Technol.*, 1942, 17:27.
——— and GONZALES, L. M. *J. Immunol.*, 1942, 45:63.
MUELLER, J. H. *Bact. Rev.*, 1940, 4:97.
——— *J. Immunol.*, 1941, 42:353.
——— *J. Immunol.*, 1941, 42:343.
——— and MILLER, P. A. *J. Bacteriol.*, 1946, 51:743.
NEILL, J. M. y col. *J. Immunol.*, 1930, 18:437, 455; 19:109; 1931, 20:25.
NEILL, J. M. y col. *J. Immunol.*, 1930, 18:437, 455; 19:109; 1931, 20:25.
1931, 13:499.
NEWSHOLM. *Epidemic Diphtheria*, London, 1898.
PAPPENHEIMER, A. M., JR. *J. Biol. Chem.*, 1937, 120, 543.
——— and JOHNSON, S. J. *Brit. J. Exper. Pathol.*, 1936, 17:335, 342; 1937, 18:239.
——— and ROBINSON, E. S. *J. Immunol.*, 1937, 32:291.
PARFENTJEV, I. A., and GOODLINE, M. A. *J. Bacteriol.*, 1945, 50:661.
PARK, W. H. *Am. J. Dis. Child.*, 1931, 42:1439.
——— and SCHRODER, M. C. *Am. J. Pub. Health*, 1932, 22:7.
——— and WILLIAMS, A. *J. Exper. M.*, 1896, 1:164.
PARK and ZINGHER. *J.A.M.A.*, 1915, 5:2216; 1916, 6:431.
PAULL, R., TUCKER, S. N., HOLLADAY, B. L., and NICEWONGER, C. R. *Ann. Int. M.*, 1946, 24:413.
PERRY, C. A., and PETRAN, E. *J. Lab. & Clin. Med.*, 1939, 25:71.
RAMON, G. *Compt. rend. Soc. de biol.*, 1922, 86:661, 813.
——— *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1923, 37:1001; 1939, 62:5.
RAMON and DEBRÉ. *Presse méd.*, April, 1932.
ROBINSON, D. T., and PEENEY, A. L. P. *J. Path. & Bacteriol.*, 1936, 43:403.
ROSS, V. *Am. J. Dis. Child.*, 1944, 68:172.
———, CLAPP, F. L., and SCHIMPF, B. W. *Am. J. Pub. Health.*, 1946, 36:645.

Roux, E., and Yersin, A. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1888, 2:629; 1889, 3:273; 1890, 4:385.
Sabouraud, R. *Am. d'Inst. Pasteur*, 1897, 11:134.
Schick. *Über Diphtherimmunität.*,Wiesbaden, 1910.
Schick, B. *Münch. med. Wchnschr.*, 1913, 60:2608.
Stowman, K. *Epidemiol. Inf. Bull. U. N. R. R. A.*, 1945, 1:157.
Thelander, H. E. *Am. J. Dis. Child.*, 1940, 59:342.
Top, F. H. *Am. J. Pub. Health*, 1947, 37:549.
T'ung, T. *Am. J. Hyg.*, 1945, 41:57.
Wesbrook, F. F., Wilson, F. B., and McDaniel, O. *Tr. Ass. Am. Physicians*, 1900, 15:198.
Zingher and Soletsky. *J. Infect. Dis.*, 1916, 17:54.
Zinsser. *Nelson's Loose-Leaf Medicine*, Vol. IX, 205.
——— *J. Med. Research*, 1907, 17:277.

CAPITULO XXVII

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS Y TUBERCULOSIS

Orden: *Actinomycetales* Buchanan. Familia: *Mycobacteriaceae* Chester. Género: *Mycobacterium* Lehmann y Neumann. Especies: *Mycobacterium tuberculosis* (Schroeter) Lehmann y Neumann

La tuberculosis es una enfermedad crónica que dura más bien años que días o semanas. No es infrecuente que un paciente con infección pulmonar elimine periódicamente bacilos tuberculosos con el esputo durante diez, veinte o treinta años. Como se requieren años para la evolución de la infección en un caso determinado, no es sorprendente comprobar que ondas epidémicas aisladas de tuberculosis duren de cien a doscientos años (Drolet, 1947). Según Brownlee (1918), la tuberculosis, en 1655, causó en Londres más del veinte por ciento de todas las defunciones. Por el 1775 esta cifra cayó al 13 por ciento. Se elevó a un máximo del 30 por ciento en 1801 y desde entonces declinó gradualmente hasta el 6 por ciento en 1939. Esta epidemia en Londres duró aproximadamente 200 años. Alrededor de 1860 empezó una epidemia de tuberculosis en las ciudades del sur de Noruega y se extendió lentamente hacia el norte alcanzando el máximo en este sector en el año 1915. Se requirieron, por consiguiente, menos de 100 años para la evolución de esta onda epidémica de tuberculosis (Drolet, 1947).

Entre los años de 1812 y 1890 la mortalidad por tuberculosis en las ciudades de Nueva York, Filadelfia y Boston fluctuó entre 300 y 500 por 100 000. En el país en conjunto, como se muestra en la figura 67, empezó por este tiempo una disminución casi constante de la mortalidad que aun continúa. Interesa observar que antes del descubrimiento del bacilo de la tuberculosis y antes de que se dictara ninguna medida específica para combatir la enfermedad, tuvo lugar una disminución muy notable de mortalidad por tuberculosis. La declinación, por tanto, debe ser atribuída a disminución de la virulencia del organismo infectante, a un aumento de la resistencia de la población o a factores no específicos, como mejor alimentación, vestido y vivienda consecutivos al aumento del nivel de vida. Sin embargo, es lógico suponer que la rápida disminución de la mortalidad se deba, en gran parte, a los métodos que han sido aplicados con eficacia creciente en los últimos 40 años. La disminución de mortalidad que indica la figura 67 puede dar la falsa impresión de que la tuberculosis ya no es enfermedad de importancia mayor. En 1910 la tuberculosis encabezó la lista de defunciones por causas específicas; si bien ahora está en séptimo lugar, la figura 68 muestra que es la causa principal de muerte por enfermedad infecciosa entre los 15 y los 44 años de edad.

El hallazgo de tuberculosis evidente en los huesos de algunas momias egipcias y las descripciones clínicas registradas en antiguos escritos de hindúes y chinos, sugieren que la tuberculosis ha azotado a la humanidad durante los pasados 3 000 a 5 000 años (Webb, 1936).

En la Edad Media, Fracastoro (1484-1553) llegó a algunas conclusiones de notable precisión en lo que concierne a la naturaleza infecciosa de la tuberculosis y su mecanismo de transmisión. La primera demostración experimental fué suministrada

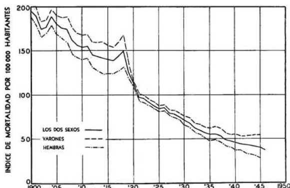


FIG. 67. MORTALIDAD POR TUBERCULOSIS EN ESTADOS UNIDOS: 1900-1946.

(Datos suministrados por National Tuberculosis Association.)

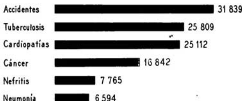


FIG. 68. MUERTES DE PERSONAS DE 15 A 44 AÑOS DE EDAD EN ESTADOS UNIDOS, 1945.

(Esquema proporcionado por Mary Dempsey, de National Tuberculosis Association.)

en 1843 por Klencke, quien logró infectar a un conejo. Los experimentos de mayor envergadura de Villemin (1865) convencieron a todos de que la tuberculosis podía ser transmitida a los animales y mantenida indefinidamente por pasos seriados. Baumgarten quizá vió los bacilos en los tejidos infectados, en 1878, pero la gloria del descubrimiento de la causa de la tuberculosis corresponde a Robert Koch, quien aisló el bacilo de la tuberculosis en 1882. Koch reprodujo la enfermedad en los animales con cultivos puros y logró recuperar los organismos típicos de los animales infectados.

Representantes del género *Mycobacterium* se encuentran en el suelo, agua, vegetales y aun en el polvo del aire. Todos se caracterizan por una reacción de color peculiar, por cuanto son difíciles de teñir, pero una vez teñidos resisten la decoloración por los ácidos minerales; de ahí el nombre de bacterias ácidorresistentes.

Algunos de los organismos ácidorresistentes han adquirido la capacidad de producir enfermedad en los animales de sangre fría, mientras que otros se han adaptado específicamente para producir la enfermedad en animales como ratones silvestres, ratas, vacas, aves y hombre.

Algunos de los saprófitos ácidorresistentes clasificados son *Myco. phlei* de la alfalfa; *Myco. stercoris* o bacilo del estiércol, y *Myco. butyricum* de la manteca. *Myco. smegmatis* es parásito, pero no patógeno, y se encuentra en el esmegma de machos y hembras. Un organismo similar ácidorresistente se encuentra en el cerumen de los oídos.

Algunos bacilos ácidorresistentes han adquirido poder patógeno para peces, ranas, serpientes, tortugas, caimanes e iguanas. Estas micobacterias no son infectantes para los animales de sangre caliente ni para el hombre. Rabinowitsch, quien aisló *Myco. butyricum* en 1897, aisló posteriormente *Myco. schlagen* de una *Boa constrictor*. Se puede obtener información adicional acerca de estos organismos ácidorresistentes aislados de los animales de sangre fría, consultando las publicaciones de Aronson (1926, 1929, 1938).

Myco. muris fué aislado de ratones campestres por Wells en 1937. En 1902, Stefansky describió una enfermedad llamada lepra de las ratas; el organismo causante de esta enfermedad no ha sido aislado ni cultivado.

Las vacas se infectan espontáneamente por tres diferentes especies de *Mycobacterium*, cada una de las cuales posee un grado diferente de virulencia. Daines (1933) cultivó un bacilo ácidorresistente de una infección cutánea leve de las vacas. Este organismo, que no era patógeno para los animales del laboratorio, causaba lesiones localizadas curables e inducía sensibilidad a la tuberculina (Daines y Austin, 1934). En 1895, Johne y Frothingham describieron en el Canadá un bacilo ácidorresistente que causaba una enteritis localizada conocida ahora como *enfermedad de Johne. Mycobacterium tuberculosis* variedad *bovis* fué aislado por Koch poco tiempo después de descubrir la cepa humana de *Myco. tuberculosis.* Koch creyó que los dos organismos eran idénticos, hasta que el trabajo de Theobald Smith, en 1898, le convenció de que las diferencias en las características de cultivo y patogenicidad eran suficientes para justificar la clasificación del organismo bovino como una variedad de *Myco. tuberculosis* (1901). Debe notarse, sin embargo, que hay muchas cepas, especialmente las derivadas de tuberculosis cutáneas, que ocupan una posición intermedia por sus características de cultivo y su poder patógeno para los animales y que no pueden ser clasificadas definitivamente como tipo humano o bovino (Griffith, 1925). El bacilo bovino produce enfermedad en diversos animales, incluyendo el hombre.

Mycobacterium tuberculosis variedad *aviaria* es primitivamente una enfermedad de las gallinas, palomas y otras aves. El organismo fué aislado e identificado por Rivolta, en 1889; Nocard y Roux, en 1887; Mafucci, en 1892, y otros. El hombre se infecta rara vez por el bacilo aviario (Rich, 1944), pero los cerdos adquieren fácilmente la enfermedad por contacto con las gallinas (Stiles, 1938).

Mycobacterium tuberculosis y *Myco. leprae* son primariamente patógenos para el hombre. *Myco. tuberculosis* puede infectar cerdos, vacas y perros, pero *Myco. leprae* sólo causa enfermedad en el hombre.

El bacilo de Foley, aislado por biopsia y en la necropsia de un niño, en el hospital de la Universidad de Duke (Weil y col., 1948), tiene especial interés porque posee características comunes con el bacilo de la lepra, el de la tuberculosis y los *Nocardia* ácidorresistentes. Los estudios detallados de Cuttino y McCabe (1948) demostraron que los organismos, en las lesiones del niño, estaban reunidos en el interior de las grandes células mononucleares o células de tipo leproso y, como las células cultivadas de bacilos de la lepra, los organismos no eran patógenos para los animales de laboratorio. Se teñían intensamente por el método de Ziehl-Neelsen y, como los bacilos de la tuberculosis, resistían la decoloración prolongada con alcohol ácido. Los bacilos se desarrollaron rápidamente a la temperatura de la habitación en medio de Sabouraud, produciendo numerosas formas ramificadas similares a los *Nocardia* ácidorresistentes de los

Actinomycetales. Un organismo con caracteres morfológicos y culturales similares fué aislado por Beaven y Bayne-Jones en 1931 de un niño que estaba enfermo de neumonía y pleuresía. El paciente, no obstante, se restableció completamente.



FIG. 69. BACILOS TUBERCULOSOS.

El protoplasma de los bacilos ha sido teñido por el método de Ziehl-Neelsen; la pared celular, sin teñir, ha sido delimitada por adición de nigrosina. × 3600. (Según Yegian y Vanderlinde, *J. Bacteriol.*, 1947, 54:777.)

Morfología y tinción. Los bacilos de la tuberculosis son bastante finos, rectos o ligeramente curvados con extremos redondeados. Su grosor varía entre 0,2 a 0,5 μ y su longitud es de 1 a 4 μ. Ocasionalmente se ven verdaderas ramificaciones en los cultivos viejos, a veces en los frotis de los ganglios linfáticos caseosos. En ciertas condiciones de cultivo se pueden producir a voluntad formas ramificadas (Vera y Rettger, 1938).

Los bacilos son *gramnegativos* y *ácidorresistentes*. Son *inmóviles*, *no esporulados* y *no tienen cápsula*. Por las microfotografías electrónicas se ha demostrado una pared celular algo gruesa, probablemente rígida (Mudd y Anderson, 1944). La figura 69 muestra el tamaño relativo de la pared y del protoplasma incluído, aunque se ha producido cierta contracción del citoplasma, probablemente como resultado de la fijación y la tinción. Debajo de la pared celular hay una membrana citoplásmica definida dotada de permeabilidad diferencial. Cuando se tiñen bacilos vivos jóvenes con azul de metileno, se ven gránulos de color azul obscuro en el citoplasma, en particular cerca de los extremos de la célula bacteriana. Estos gránulos, que se tiñen por la técnica de Feulgen, representan probablemente materiales nucleares.

Los bacilos de la tuberculosis, tanto de los cultivos como de las secreciones, suelen teñirse por el método de Ziehl-Neelsen. La fucsina fenicada se deja actuar durante 12 a 24 horas; puede acelerarse el proceso calentando la preparación hasta emitir vapores durante 5 a 10 minutos. El exceso de colorante se arrastra con agua, y el frotis se decolora por lavado durante algunos segundos con alcohol de 95° que contiene el 5% de ClH. Después se contrasta durante un minuto con azul de metileno y los bacilos se ven como bastones rojo-brillantes sobre fondo azul obscuro (fig. 70). Los bacilos de la tuberculosis teñidos con auramina fenicada son *fluorescentes* cuando el frotis se examina con luz ultravioleta. Este método ha sido utilizado en algunos hospitales como suplemento al de Ziehl-Neelsen al objeto de descubrir este microorganismo (Bekker y Tasman, 1941; Crossmon y Loewenstein, 1943). La reacción coloreada peculiar de los bacilos



FIG. 70. BACILOS TUBERCULOSOS TEÑIDOS UNIFORMEMENTE POR EL MÉTODO DE ZIEHL-NEELSEN.

× 3600. (Según Yegian y Kurung, *Am. Rev. Tuberc.*, 1947, 56:36.)

ácidorresistentes y la naturaleza de los gránulos de inclusión han sido estudiados en detalle por Yegian y sus colaboradores (1942-47). La concepción más antigua, según la cual la ácidorresistencia dependería de la existencia de una envoltura cérea alrededor de la célula, ya no resulta sostenible (Knaysi, 1929). El ácido micólico, aislado de los bacilos de la tuberculosis por Anderson en 1932, es ácidorresistente y por algún tiempo se pensó que esta substancia explicaba la resistencia del bacilo a la decoloración por soluciones ácidas. El ácido micólico, sin embargo, sólo tiene tenue color rosado cuando se tiñe en películas finas comparables en grosor a las del bacilo de la tuberculosis. Yegian y Vanderlinde (1947) han demostrado que el protoplasma del organismo, en el cual está contenido el ácido micólico, se tiñe de color rosa muy tenue y que la mayor parte del colorante origen de este color rojo brillante del bacilo está libre en solución dentro de la membrana citoplásmica. Los gránulos que se observan en la figura 71 son partículas de protoplasma parcial o completamente rodeadas por la membrana citoplásmica. Son numerosos en los cultivos viejos y en los cultivos desarrollados en condiciones subóptimas.



FIG. 71. FORMAS GRANULARES DE BACILOS TUBERCULOSOS TEÑIDOS POR EL MÉTODO DE ZIEHL-NEELSEN.

× 3600. (Según Yegian y Kurung, *Am. Rev. Tuberc.*, 1947, 56:36.)

Los glóbulos que se ven en la figura 72 son artefactos, que se pueden hacer aparecer y desaparecer a voluntad. Estos glóbulos parecen distender la membrana citoplásmica y más anchos que la columna de protoplasma. Los glóbulos se forman por precipitación de colorante libre; se pueden redisolver dentro de la célula (figura 70) por lavado de la preparación con fenol al 5% o con alcohol etílico de 95° (Yegian y Baisden, 1942; Yegian y Vanderlinde, 1948). La integridad de la estructura celular es esencial para el mantenimiento de la ácidorresistencia. El tratamiento brutal químico o mecánico convierte los organismos en no ácidorresistentes; la extracción cuidadosa de los lípidos libres no tiene efecto sobre las afinidades colorantes de los bacilos. Las esporas de las bacterias y algunas especies de hongos se tiñen de rojo brillante por el método de Ziehl-Neelsen, pero no está comprobado que contengan ácido micólico o cantidades apreciables de lípidos.



FIG. 72. BACILOS TUBERCULOSOS EN ROSARIO, PRODUCIDOS ARTIFICIALMENTE.

Tinción de Ziehl-Neelsen. × 3600. (Según Yegian y Kurung, *Am. Rev. Tuberc.*, 1947, 56:36.)

Los glóbulos han sido formados una y otra vez artificialmente en esporas de hongos por los mismos métodos utilizados en el estudio del bacilo de la tuberculosis.

La *grampositividad* de los bacilos de la tuberculosis es independiente de los efectos mordientes del yodo y parece depender de los mismos factores que originan la ácidorresistencia (Kretschmer, 1934).

Formas no ácidorresistentes. Numerosos observadores han referido la presencia de bastones y gránulos no ácidorresistentes en cultivos jóvenes de bacilos de la tuberculosis (Kahn, 1929-33; Mellon y col., 1929-33). En 1944, Yegian y Porter demostraron que estos bastones y gránulos no ácidorresistentes se pueden producir artificialmente traumatizando (fig. 73) los bacilos sobre la lámina con una asa de platino o cortando las colonias con una cuchilla de microtomo. Como los bacilos de los cultivos viejos no se afectaban fácilmente se supuso que las paredes celulares de los organismos más jóvenes no eran suficientemente fuertes para proteger las delicadas membranas citoplásmicas semipermeables que rigen la retención del colorante.

Gránulos de Much. En muchas muestras de pus de los abscesos fríos, lesiones granulomatosas de los ganglios linfáticos, exudados serosos y algunos esputos, no se pueden encontrar organismos ácidorresistentes, aun cuando tales materiales producen tuberculosis si se inoculan a los animales. Tiñendo tales muestras por la coloración modificada de Gram, Much (1908) demostró la presencia de gránulos grampositivos en cadenas cortas o en acúmulos irregulares. Much creyó que estas estructuras eran bacilos tuberculosos no ácidorresistentes; aunque sus observaciones han sido confirmadas muchas veces, hay diferencias de opinión acerca del significado de estas formas. Algunos investigadores las consideran como la etapa filtrable, cocoide, diminuta, en el ciclo de vida del bacilo de la tuberculosis.



Fig. 73. Bacilos tuberculosos.

Las formas poco teñidas, no ácidorresistentes, fueron producidas por traumatización con el asa de platino. Tinción de Ziehl-Neelsen. × 3600. (Según Yegian y Kurung, *Am. Rev. Tuberc.*, 1947. 56:36.)

Hemos visto que es posible volver no ácidorresistentes a los bacilos tuberculosos jóvenes por traumatismos relativamente ligeros. Sin embargo, la interpretación de los gránulos no ácidorresistentes fué difícil hasta que Porter y Yegian (1945) diferenciaron los gránulos de Much de los cuerpos nucleares y demostraron que los primeros eran artefactos (fig. 74) correspondientes a las perlas de los bacilos ácidorresistentes (fig. 72). Los autores pudieron convertir los gránulos presentados en la figura 74 en bastones azules uniformemente teñidos por tratamiento con solución de fenol al 5% y la reversión a la forma granular fué lograda por lavado con Lugol, después con HNO_3 y, finalmente, por tratamiento con alcohol-acetona. En las muestras clínicas los gránulos de Much no pueden diferenciarse con certeza de otras substancias granulares y, por lo tanto, carecen de valor diagnóstico.

Formas filtrables. La evidencia de que el bacilo tuberculoso tiene un complicado ciclo de vida se basa, en parte, en los resultados variables obtenidos en experimentos

de filtración (Soltys y Taylor, 1944) y en parte en las observaciones directas de la degeneración de un bacilo típico en una masa de gránulos de la cual pequeños bastones no ácidorresistentes se desarrollaron finalmente en organismos ácidorresistentes típicos (Kahn, 1929, y Mellon, 1929-33). Wyckoff y Smithburn (1933) y Wyckoff (1934) han demostrado por cinematografía que los bacilos jóvenes aumentan de tamaño antes de dividirse, mientras que en los cultivos viejos continúan dividiéndose sin agrandarse, produciendo finalmente pequeñas formas cocoides ácidorresistentes. Cuando se les suministran medios frescos, las formas cocoides revierten lentamente a bacilos de tamaño común. Es dudoso si un gránulo que ha perdido su membrana citoplásmica puede regenerarse.

Han sido descritas variantes gonidiales (G) para los estafilococos, bacilos diftéricos y otros organismos. Estas diminutas formas bacilares y cocoides tienen un metabolismo lento, producen colonias pequeñas y son químicamente inactivas, pero en ocasiones pueden revertir a las formas originales activas. Tales colonias no han sido descritas para el bacilo de la tuberculosis, pero no se puede negar la posibilidad de su existencia. En algunos de los experimentos de filtración, en los cuales sólo después de un largo período de incubación se infectaron los cobayos, los organismos estaban quizá en forma G. Dada la inactividad de estas variantes, parece poco probable que la hipotética forma G tenga significación en la patogenia de la tuberculosis.

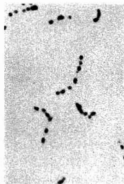


Fig. 74. Bacilos tuberculosos con gránulos de Much después de tratados con método de Gram modificado. × 3600. (Según Yegian y Kurung, *Am. Rev. Tuberc.*, 1947, 56:36.)

Tinción de Pappenheim. Este método de coloración se usa para diferenciar los bacilos tuberculosos de los saprófitos ácidorresistentes y bacilos del esmegma. Las preparaciones se tiñen con fucsina fenicada caliente, como se indicó antes. La fucsina fenicada se vierte sin lavar y el portaobjetos se sumerge en una mezcla preparada saturando una solución alcohólica al 1% de ácido rosólico con azul de metileno y añadiéndole 20% de glicerina. En tales preparaciones los bacilos tuberculosos permanecen rojos mientras que los bacilos del esmegma pueden ser azules.

Caracteres de cultivo. Los bacilos saprófitos ácidorresistentes se desarrollan fácilmente en los medios ordinarios a la temperatura de la habitación. Los bacilos de la tuberculosis no se desarrollan sobre los medios corrientes, pero sí lo hacen lentamente en suero espesado, huevo coagulado o medio de patata, después de dos o tres semanas de incubación a 37° C. La adición del 5 por ciento de glicerina inhibe el desarrollo del bacilo murino, tiene poco o ningún efecto sobre el bacilo bovino, pero acelera apreciablemente el desarrollo de las cepas humana y aviaria. Los bacilos de la tuberculosis se desarrollarán en pH de 6,0 a 7,6. El mejor pH para el mantenimiento de la virulencia es de 6,8; los cultivos de los microorganismos humanos y bovinos desarrollados a pH 6 se atenúan rápidamente (Smithburn, 1936). La temperatura óptima para el aislamiento de las cepas aviarias es de 40° C.; de la humana y bovina, de 37° C., y de los bacilos de los animales de sangre fría, 25° C.

Sin embargo, después de cierto número de generaciones en el laboratorio los requerimientos de temperatura de los organismos son menos precisos.

Los bacilos de la tuberculosis son *aerobios obligados* y no se desarrollarán en ausencia de oxígeno. Incluso una reducción moderada en la tensión de oxígeno da lugar a una disminución apreciable en el metabolismo de los bacilos (Kempner, 1939). Se ha comprobado que se requieren 500 c.c. de aire para el desarrollo máximo de un cultivo inclinado de bacilos tuberculosos (Novy y Soule, 1925). Los tapones o cubiertas de goma perforados son mejores que los tapones sólidos de cera o parafina.

Los bacilos aviarios producen colonias lisas, cremosas, blandas e incoloras sobre medios sólidos después de una incubación de 7 a 10 días. En caldo, los organismos se desarrollan de manera difusa por todo el líquido y producen una suspensión homogénea uniforme dejando muy poco sedimento. Por lo que se refiere a las cepas humanas y bovinas se desarrollan de manera muy lenta en *suero espesado* o bien en *medio de huevo coagulado*, produciendo, después de 10 a 20 días, colonias escamosas y pequeñas, secas, con superficie rugosa. Las cepas bovinas se desarrollan con mayor lentitud que los bacilos de origen humano. En *caldo glicerinado*, preparado por adición del 5% de glicerina a la infusión de caldo peptona de buey o ternera, el desarrollo de las cepas humana y bovina se limita a la superficie del medio. Sobre la superficie del caldo aparece una película gris, casi transparente, a manera de velo. Esta película se engruesa gradualmente y forma una membrana arrugada, blanca o ligeramente amarillenta, que cubre toda la superficie del cultivo líquido (fig. 75). Los bacilos tuberculosos se adaptan por sí mismos con dificultad a este tipo flotante de existencia y es mejor cultivarlos primero en un medio inclinado de huevo o huevo glicerina que contenga abundante agua de condensación o en uno al cual se haya añadido 1 ó 2 c.c. de caldo glicerinado. Cuando una película fina se extiende sobre el líquido del fondo del tubo se pueden extraer trozos de esta membrana y colocarlos cuidadosamente en la superficie del caldo glicerinado. Las porciones transplantadas que van al fondo del frasco no logran desarrollarse.



FIG. 75. CULTIVO DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS EN MATRAZ DE CALDO GLICERINADO.

Dubos y Davis (1946) comprobaron que un derivado de un ácido graso de cadena larga, conocido comercialmente en Estados Unidos como "Tween 80", altera las condiciones osmóticas en los caldos de cultivo, de modo que los bacilos tuberculosos se multiplican con rapidez mucho mayor, dando un tipo de desarrollo uniforme y homogéneo por todo el medio de cultivo. Por hidrólisis se libera ácido oleico, que es tóxico para el organismo, pero ello se puede evitar por la adición al medio de pequeñas cantidades de albúmina de bovino. Como las suspensiones homogéneas de organismos desarrollados en otros tipos de medio son difíciles de preparar, las ventajas del medio de Dubos son evidentes.

Después del primer aislamiento, los bacilos tuberculosos se desarrollan rápidamente sobre *medios sintéticos* que contengan glicerina, asparagina, citrato y sales inorgánicas (Long, 1925-26). El amigen, el malato amónico o una combinación de

aminoácidos pueden substituir a la asparagina, pero no dan mejor desarrollo. Mientras se desarrolla en medios sintéticos, el bacilo de la tuberculosis sintetiza todas las vitaminas conocidas del complejo B (Pope y Smith, 1946). La adición de vitaminas a los medios sintéticos no aumenta de manera apreciable la rapidez ni el grado de desarrollo.

Para el primer aislamiento se puede emplear el medio de huevo de Dorset, preparado por adición de agua al huevo completo y coagulación por espesamiento. Este medio es útil con material no contaminado del hombre o de los animales experimentales, pero para aislar los organismos de materiales contaminados es aconsejable emplear el medio de Petroff o la patata glicerinada de Corper. El medio de Petroff consiste en un caldo de carne al que se añade huevo, glicerina y violeta de genciana. El violeta de genciana inhibe de manera efectiva el desarrollo de cocos contaminantes, pero tiene también muy ligero efecto inhibidor para los bacilos de la tuberculosis. Corper empapa la pieza de patata en solución de cristal violeta durante corto tiempo antes de añadir la solución de glicerina. La modificación de Holm al medio de aislamiento de Lowenstein contiene huevo, harina y patata, citrato, glicerina y asparagina.

El medio de Dubos, que contiene caseína hidrolizada y "Tween", sería ideal para el aislamiento primario de cultivos de bacilos de la tuberculosis. En la práctica, sin embargo, el medio es rico y favorece el desarrollo de los contaminantes. La adición de penicilina no resultó satisfactoria; se llevan a cabo experimentos con ácido oleico como inhibidor de los contaminantes. Siempre que los organismos contaminantes estén presentes, el material debe ser concentrado antes de cultivarlo, incluso en medios selectivos (Cap. LXXVI).

Tanto la *glucosa* como la *glicerina* son utilizadas por los bacilos de la tuberculosis, pero no se han descubierto fermentaciones características de valor diagnóstico. Theobald Smith (1904-05) observó que los bacilos humanos desarrollados en un medio glicerinado producían primero una reacción alcalina que gradualmente cambiaba al lado ácido cuando continuaba el desarrollo. Por el contrario, con las cepas bovinas persistía la alcalinidad. Las reacciones de cepas individuales son, sin embargo, demasiado irregulares para dar curvas de titulación que sirvan en la diferenciación de las cepas humanas de las bovinas (Merrill, 1930; Weinzirl y Dingle, 1932).

Resistencia. Los bacilos tuberculosos pueden permanecer viables en los medios de cultivo durante dos a ocho meses. Los organismos de los cultivos mueren en dos horas cuando se exponen a la luz directa del sol, pero los contenidos en el esputo requieren una exposición de 20 a 30 horas. Cuando están protegidos de la luz directa del sol viven en el esputo putrefacto durante semanas y en el esputo seco hasta seis a ocho meses. Las gotitas de esputo secas, adheridas a las partículas de polvo del aire, pueden ser infectantes durante ocho a diez días (Smith, 1942). Los bacilos de la tuberculosis resisten a los desinfectantes usuales. Una solución de fenol al 5 por ciento requiere 24 horas para desinfectar el esputo; los hipocloritos no son eficaces.

Afortunadamente, los bacilos de la tuberculosis no poseen mayor resistencia al calor húmedo que las otras bacterias. Las temperaturas de pasteurización son, por lo tanto, eficaces para eliminarlos de la leche y productos lácteos.

Las *sulfonamidas* tienen acción inhibidora definida sobre los bacilos de la tuberculosis *in vitro*, pero solamente con concentraciones algo altas. En experimentos en animales se ha observado cierta inhibición. Las sulfonas son más eficaces. La promina y el promizol han curado cobayos con tuberculosis experimental, pero, por desgracia, el hombre es mucho más sensible a la acción tóxica de estas drogas que el cobayo (Feldman y col., 1942; Milgram y col., 1947).

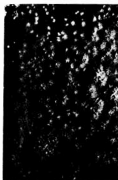


Fig. 76. Colonias rugosas de H37Rv.

(Obtenido por Steenken y fotografiado por Kurung.)

La *penicilina* es ineficaz, pero la *estreptomicina* a concentración de 0,15 a 300 microgramos por c.c. de medio de cultivo inhibe el desarrollo de los bacilos de la tuberculosis. Esta amplia zona es debida a la facilidad con que se desarrollan razas estreptomicinorresistentes. La mayor parte de los bacilos recién aislados son muy susceptibles, pero se desarrollan cepas resistentes, tanto en el tubo de ensayo como en el paciente, después de algunas semanas de exposición (Hinshaw y col., 1946).

Pigmentación. La mayor parte de las bacterias saprófitas ácidorresistentes producen colonias cromógenas. El color puede ser amarillo, rosa, naranja o rojo ladrillo. En general, los bacilos de la tuberculosis aislados de los animales de sangre fría forman colonias incoloras. Las cepas bovinas suelen ser incoloras, pero algunas de rápido crecimiento desarrollan un color rosado cuando se cultivan en medio de huevo glicerinado (Blacklock, 1932), o una coloración verde en medio de Sauton (Kolle, 1932); muchas cepas aviarias desarrollan colonias coloreadas de rosa en medio de huevo glicerinado. Cuando se cultiva en un medio de suero de buey, el bacilo humano muestra frecuentemente colonias amarillas o anaranjadas. Reed y Rice (1929-31) han comprobado que la adición de 0,02 por ciento de citrato férrico estimula el desarrollo de colonias cromógenas. Sin embargo, para obtener la máxima producción del pigmento fué necesario conservar los cultivos a la temperatura de la habitación después de una primera incubación a 37° C.

Olor. Todos los cultivos de los verdaderos bacilos de la tuberculosis tienen olor a frutas, más bien agradable; no ocurre así con los bacilos saprófitos ácidorresistentes.

Variabilidad. En 1927 Petroff, en el laboratorio Trudeau, obtuvo la variación de los bacilos de la tuberculosis. En las primeras publicaciones de su laboratorio, los términos liso (S) y rugoso (R) habituales fueron cambiados en un esfuerzo para asociar el símbolo S con virulencia, aun cuando las colonias fueran en realidad rugosas (Petroff, Branch y Steenken, 1929; Petroff y Steenken, 1930). La nomenclatura corriente empleada desde 1936 utiliza la S para designar colonia lisa y la R para designar la rugosa (Oatway y Steenken, 1936).



Fig. 77. Colonias rugosas de H37Ra.

Obsérvense las colonias intermedias mayores, más planas. (Obtenidas por Steenken y fotografiadas por Kurung.)

Con algunas excepciones, los organismos virulentos producen colonias R (fig. 76), pero hay también colonias R que son avirulentas (fig. 77). Se han obtenido colonias lisas de cepas aviarias de virulencia intermedia (Petroff y Steenken, 1930; Steenken, 1935) y de cepas S de bacilos humanos y bovinos de alta virulencia (Smithburn, 1935). Sin embargo, los bacilos tuberculosos generalmente sólo presentan la forma R. Formas S no han sido aisladas de los cultivos de H37 y BCG (Steenken, 1934-35). En 1935, Steenken propuso una nueva terminología en la cual las designaciones usuales S y R se conservan, pero se añaden subletras; por ejemplo: R_v igual a rugosa virulenta; R_a igual a rugosa avirulenta; R_{1a} igual a rugosa intermedia; S_{ch} igual a cromógena lisa; S_{cha} igual a lisa cromógena avirulenta. Esta clasificación ha sido utilizada en las publicaciones del laboratorio Trudeau desde 1935 y se acepta hoy como tipo.

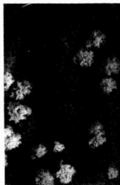


Fig. 78. Colonias rugosas de R_{1v}.

(Obtenidas por Steenken y fotografiadas por Kurung.)

Los bacilos de la tuberculosis producen gran diversidad de formas de colonia como resultado de muy ligeros cambios en el medio. Una variante hay que subcultivarla durante meses y aun años con el fin de que pueda considerarse estabilizada (Steenken y Gardner. 1943).

El efecto de la grasa de huevo sobre el cambio de la colonia fué descubierto por Steenken en 1940. Cuando los bacilos de la tuberculosis se desarrollan en medios que contienen huevo, la grasa del huevo convertirá artificial y mecánicamente ambas colonias R_v y R_a en formas S. Cuando se subcultivan en medios sin huevo, las colonias revierten a sus formas habituales.



Fig. 79. Colonias rugosas de R_{1a}.

Obsérvense las colonias intermedias mayores, más planas. (Obtenidas por Steenken y fotografiadas por Kurung.)

La cepa relativamente avirulenta R_1, que ha sido usada durante unos cincuenta años para producir hipersensibilidad e inmunidad relativa en los animales, varía a la forma normal R_{1v}, la cual producirá una enfermedad progresiva en los cobayos con silicosis experimental (fig. 78) y a una segunda forma R_{1a} (fig. 79) que no infectará ni a los cobayos normales ni a los que tienen silicosis (Steenken y Gardner, 1946). La cepa atenuada BCG de Calmette y Guerin, que se usa en la inmunización del hombre contra la tuberculosis, es aún menos virulenta que la R_1, pero también muestra variantes que morfológicamente remedan las de R_1 (figs. 78 y 79) con BCG_a, que es casi completamente avirulenta.

El subcomité de normalización de cultivos del comité para la investigación médica de la

National Tuberculosis Association de EE. UU. ha designado al laboratorio Trudeau como depositario y estación de suministro de cultivos *tipo* de bacilos tuberculosos de origen, tipo y virulencia conocidos (Gardner, 1946).

Metabolitos bacterianos. Los bacilos ácidorresistentes *no producen exotoxinas.* Los organismos del esmegma, del estiércol, de la alfalfa y de las aves poseen endotoxinas que son capaces de matar a los conejos, pero los tipos humano y bovino del bacilo tuberculoso *no tienen endotoxinas.*

Los seres humanos infectados espontáneamente y los animales infectados experimentalmente dan todos reacciones violentas después de la inyección subcutánea o intravenosa de pequeñas cantidades de tubérculoproteína. Este efecto no se debe a la acción de una endotoxina, sino que resulta de la aparición de un estado de *hipersensibilidad* característico de las infecciones tuberculosas.

Regularmente se produce *catalasa* y se forma H_2S en cantidades variables por los cultivos de bacilos tuberculosos. Los organismos sintetizan un pigmento llamado ftiocol, dotado de actividad vitamínica K (Ball, 1934) y un alcohol elevado llamado ftiocerol (Anderson, 1941). Tanto la cepa humana $H37R_v$ como la bovina Ravenel sintetizan todas las vitaminas conocidas del complejo B, incluyendo la biotina y el ácido fólico (Pope y Smith, 1946).

Estos organismos industriosos, a partir de las substancias simples incluídas en el medio fabrican fosfátidos, grasas neutras, *ceras,* carbohidratos, proteínas simples y núcleoproteínas. Las substancias lipoides constituyen del 25 al 40% del peso seco de los bacilos tuberculosos (Anderson, 1941). Muchos de los lípidos y polisacáridos son innocuos y más complejos que los usualmente encontrados en las plantas superiores y en los animales. La cantidad de las diversas substancias producidas difiere grandemente según el tipo de bacilo estudiado y la composición del medio de cultivo empleado.

Entre los compuestos orgánicos sintetizados por los bacilos de la tuberculosis están: 1) *ácido micólico,* que es *ácidorresistente* (Lesuk y Anderson, 1940); 2) *ácido tubérculoesteárico* y *ácido ftioico,* estimulante el último de la producción de células epitelioides (Sabin, 1941); 3) *ceras* insolubles que provocan la formación de células gigantes de tipo de cuerpo extraño (Sabin, 1941); 4) un *polisacárido* con peso molecular de 7 200 que ejerce acción quimiotáctica sobre los leucocitos polinucleares neutrófilos y precipita en los sueros de animales inmunes, pero que no es ni tóxico, ni antigénico (Sabin y Joyner, 1938; Tennent y Watson, 1942; Seibert, 1944); 5) una *proteína* no desnaturalizada con peso molecular alrededor de 32 000, que en dosis de 0,02 mg da cutirreacción positiva en un paciente tuberculoso, es antigénica y despierta la sensibilidad tuberculínica en los animales (Seibert y col., 1938; Seibert, 1944; Heilman y Seibert, 1946); 6) *ácido nucleico,* que no es ni antigénico ni tóxico aun para los animales tuberculosos (Seibert, 1944).

Tuberculina. Koch (1891) encontró en sus primeros experimentos que una inoculación primaria de bacilos tuberculosos en la ingle de un cobayo daba lugar, después de 10 a 14 días, a la aparición gradual de una inflamación localizada que llegaba a la necrosis y producía una úlcera abierta persistente hasta la muerte del animal. En la necropsia había inflamación y caseificación de los ganglios linfáticos, invasión masiva del bazo, hígado y pulmones e infección menos extensa de otros órganos. La inyección del mismo número de bacilos tuberculosos a un animal tuberculoso producía una serie de acontecimientos absolutamente diferentes. Después de 24 a 48 horas aparecía en el sitio de la inoculación una inflamación local, seguida por la aparición de una úlcera superficial que curaba prontamente sin llegar a la caseificación de los ganglios linfáticos adyacentes. Aunque estos animales morían

finalmente de tuberculosis, la curación local indicaba la presencia de cierto grado de resistencia. Esta reacción acelerada en el animal infectado y sensibilizado se conoce como *fenómeno de Koch*.

La inyección de filtrados de cultivos en caldo o extractos de bacilos tuberculosos producía una violenta reacción local y general, pero parecía estimular la curación y llevó a Koch a la conclusión errónea de que ciertos productos de los bacilos tuberculosos, que llamó tuberculinas, podrían curar la tuberculosis. Entre 1891 y 1901 Koch preparó una serie de tuberculinas con fines terapéuticos y subsiguientemente fueron investigadas más de cincuenta clases de tuberculina (Baldwin, Petroff y Gardner, 1927). Solamente dos tipos de tuberculina han sobrevivido a la prueba del tiempo. Estas son la preparación original de Koch conocida como *Tuberculina vieja* (O. T). y la *Proteína purificada derivada* (P. P. D.).

Tuberculina vieja (O. T.). Los bacilos tuberculosos se cultivan en caldo-peptona-glicerina al 5 por ciento, ligeramente alcalino, durante seis a ocho semanas. Al final de este tiempo el cultivo entero se hierve durante una hora para matar los bacilos que se separan por filtración. El filtrado se evapora a 80° C. en baño de María hasta reducirlo a 1/10 del volumen original del medio. Además de los productos metabólicos de los bacilos, la tuberculina contiene glicerina, peptona y sales minerales incluídas en el medio original. Para evitar las reacciones positivas falsas debidas a estos materiales, debe prepararse un testigo.

El testigo de la O. T. se obtiene evaporando una parte del medio no sembrado hasta 1/10 de su volumen.

Tanto la O. T. como el testigo contienen el 50 por ciento de glicerina, que probablemente es suficiente para preservarlos indefinidamente si se guardan en frascos de color obscuro en la nevera, aunque suele añadírseles el 5 por ciento de fenol como precaución adicional. La tuberculina es estable en su forma concentrada, pero se hace inestable cuando se diluye con solución salina fisiológica. Las diluciones recientes para prueba clínica deben ser preparadas cada semana.

La dosis de prueba de O. T. está calculada sobre la presunción, evidentemente errónea, de que un c.c. contiene 1 000 mg de tuberculina. Las proteínas activas sólo constituyen una fracción mínima de la O. T. La serie de diluciones de uso común se indican en la siguiente tabla. El testigo se diluye de la misma manera que la tuberculina.

Cantidad de O. T.	Cantidad de sol. salina	Dilución resultante	Dosis inyectada	Tuberculina inyectada
1 c.c.	9 c.c.	1:10	0,1 c.c.	10 mg
1 c.c. de 1:10	"	1:100	"	1 mg
1 c.c. de 1:100	"	1:1 000	"	0,1 mg
1 c.c. de 1:1 000	"	1:10 000	"	0,01 mg
1 c.c. de 1:10 000	"	1:100 000	"	0,001 mg

La dosis tipo para pruebas de tuberculina y para pacientes sospechosos de tener tuberculosis es de 0,1 c.c. de una dilución al 1:1 000, o sea, de 0,1 mg de tuberculina. En pacientes con tuberculosis cutánea u ocular, o cuando se sospecha una sensibilidad excesiva, la dosis inicial debe ser de 0,1 c.c. de la dilución al 1:100 000, que representa 0,001 mg de O. T. Algunos tuberculosos no dan reacción positiva con la dosis tipo de 0,1 c.c.; por lo tanto, debe obtenerse una reacción negativa con 1 mg antes de dar al individuo sospechoso como negativo para la tuberculina. Algunos pediatras dan 10 mg antes de concluir que el paciente no tiene tuberculosis.

La prueba se efectúa inyectando 0,1 c.c. de la dilución seleccionada *intracutáneamente* en un antebrazo y la dilución correspondiente del testigo en el otro. Se dice que es *negativa* si no hay reacción después de 24 y 48 horas, o si la reacción es igual en ambos brazos. Una reacción *positiva* empieza después de 12 a 24 horas como una zona de enrojecimiento o inflamación en el sitio de la inyección; puede progresar hasta eritema intenso e induración de varios centímetros de diámetro, con una pequeña zona central de necrosis superficial. La reacción se puede indicar en centímetros de eritema e induración graduada por signos más. Una gran área con necrosis central se registra como ++++, mientras que una pequeña zona roja con induración palpable definida se designa +. Los pacientes con reacciones dudosas deben probarse nuevamente con la dilución inmediata más concentrada.

Las reacciones generales son extremadamente raras después de las inyecciones intracutáneas de tuberculina. Los pacientes debilitados, aun aquellos que mueren de tuberculosis, pueden no reaccionar a la tuberculina debido a que son *anérgicos*.

Otros métodos de inyectar la tuberculina sólo tienen interés histórico. Koch inyectaba originalmente su tuberculina por vía subcutánea y los resultados positivos se estimaban por la intensidad de los síntomas generales y por el grado de reacción febril. La temperatura después de 6 a 12 horas excedía con frecuencia de 40° C. Una reacción tuberculínica generalizada es peligrosa, porque puede reactivar una infección tuberculosa latente. Von Pirquet (1907) introdujo una cutirreacción tuberculínica en la cual se colocaban dos gotas de tuberculina sobre la piel y se escarificaban las cepas superficiales. Moro (1908) incorporó en lanolina 50 por ciento de tuberculina y frotaba la pomada contra la piel sin escarificación. La inyección intracutánea antes descrita fué creada por Mantoux (1908-9) y se refiere con frecuencia como *reacción de Mantoux*.

Prueba del parche. La prueba del parche fué creada por Vollmer (1937-39). En los estudios de Vollmer y en una serie de 1 000 pruebas efectuadas en nuestro laboratorio, la prueba del parche ha sido comparada muy favorablemente con una sola dosis de 0,1 mg de O. T. (Taylor, 1939). Investigaciones posteriores y más extensas indican que la prueba del parche sólo es positiva en el 80 al 90 por ciento de los individuos que dan reacción positiva a la potente O. T. o a la P. P. D. La prueba del parche no se recomienda como substituto de la inyección intracutánea de O. T. o de P. P. D. para diagnóstico, pero es útil en estudios epidemiológicos en los niños, pues en éstos el dolor y el temor de la inyección intracutánea de tuberculina pueden crear aversión para las medidas de lucha contra la tuberculosis.

Antes de aplicar la prueba del parche debe limpiarse la piel quitándole todas las substancias grasas con acetona. El parche consiste en una franja de tela que contiene un cuadrado de tuberculina seca unas cuatro veces más fuerte que la O. T. original cerca de cada extremo y un cuadradito de material testigo en el centro de la superficie adhesiva. El parche se mantiene adherido durante 48 horas; entonces se desprende, y los resultados se leen 48 horas después de quitarlo. Este retraso en la lectura de la prueba es esencial porque deja transcurrir el tiempo necesario para que desaparezca la reacción a substancias no específicas existentes en el material adhesivo.

P. P. D. La proteína purificada derivada de tuberculina contiene una mezcla de tubérculoproteínas que tienen pesos moleculares de 2 000 a 9 000, en contraste con la tubérculoproteína antigénica natural estudiada por Seibert que tenía un peso molecular de 32 000 (Long y Seibert, 1937).

La P. P. D. es un polvo seco, el cual se "diluye en seco" con lactosa en proporciones adecuadas de modo que se puedan hacer soluciones que contengan de 0,000 02 a 0,005 mg en la dosis de inyección de 0,1 c.c. El material es estable indefinida-

mente en forma seca, pero se altera en pocos días disuelto en solución salina fisiológica. La solución más diluída o *primera dosis de prueba* equivale groseramente a la dosis de 0,01 mg de O. T. potente. La *segunda dosis de prueba* es 250 veces más fuerte que la primera y, por tanto, aproximadamente igual a la dosis de 1 mg de O. T. (Aronson, 1934). La P. P. D. es estable y de potencia uniforme y está reemplazando gradualmente las preparaciones menos cuidadosamente valoradas de O. T. (Seibert, 1941, 44; Heilman y Seibert, 1946).

Ni la O. T. ni la P. P. D. son antígenos completos; por lo tanto, no se presentarán falsas reacciones tuberculínicas positivas en individuos a quienes se les hayan hecho cutirreacciones repetidas por períodos de meses o años.

Tuberculinorreacciones aplicadas al ganado. En el ganado bovino los síntomas de tuberculosis no se descubren con facilidad por los métodos de diagnóstico físico hasta que la enfermedad ha alcanzado una etapa avanzada. En consecuencia, las vacas pueden ser peligrosas sin que aparezcan, en modo alguno, enfermas. El examen sistemático de los rebaños por la reacción a la tuberculina, ha llegado a ser una medida necesaria de salubridad. Según Mohler (1908), se puede establecer un diagnóstico seguro, por lo menos en el 97 por ciento de los casos. Es natural que haya objeciones por parte de los dueños de los establos lecheros y de los productores de ganado, y se ha aducido que éste se perjudicaba con la prueba. Sin embargo, no existe base científica para esta creencia si la prueba se efectúa con cuidado e inteligentemente. El uso sistemático de la prueba finalmente será ventajoso para los dueños mismos del ganado, ya que se ha demostrado que las vacas, aun en los primeros períodos de la enfermedad, pueden eliminar bacilos tuberculosos por la respiración o con las heces.

La posibilidad de que el ganado llegue a hacerse hipersensible a la tuberculina como resultado de infecciones relativamente poco importantes con microorganismos ácidorresistentes que no son bacilos tuberculosos, está recibiendo creciente atención. No se conoce la frecuencia de tales infecciones y su existencia no puede invalidar las ventajas generales que proporciona el conocimiento de la reacción de la tuberculina aplicada al ganado y de una campaña dirigida contra la tuberculosis bovina basada en datos obtenidos por las tuberculinorreacciones (Kiernan y Wright, 1930).

En el trabajo de la Dirección de Ganadería del Departamento de Agricultura de EE. UU. se usa la *tuberculina vieja* (O. T.) para hacer una o más de las siguientes pruebas reconocidas oficialmente: 1) prueba subcutánea o *térmica;* 2) prueba intradérmica o *cutánea*, y 3) prueba oftálmica u *ocular*. Al practicar la reacción intradérmica, la mayor parte de los operadores prefieren inyectar la tuberculina en la piel del pliegue caudal, en uno u otro lado de la cola, en un punto situado a dos tercios de distancia de la base. Los detalles de dosificación, métodos de inyección y observación y discusión de las ventajas y desventajas están presentados de manera completa por Ernest y Lash en su folleto *Tuberculin Testing of Livestock*.

Kelser (1933) aconsejó la inyección intracutánea de 0,1 c.c. de O. T. en el pliegue caudal o en el párpado inferior.

Prueba de la tuberculina aplicada a los primates. Las pruebas de tuberculina intracutánea y subcutánea ordinarias no son satisfactorias para el diagnóstico de la tuberculosis en monos y primates. Schroeder y otros autores han demostrado que la prueba más satisfactoria se practica inyectando O. T. o P. P. D. en el tejido subcutáneo del margen del párpado superior del animal. Los animales que reaccionan muestran hinchazón y enrojecimiento del párpado a las 16 horas, que dura unas 72 horas. Las reacciones positivas se determinan fácilmente.

Estructura antigénica. Por aglutinación, absorción de aglutininas y fijación del complemento, las bacterias ácidorresistentes se pueden separar en los tipos: 1) ma-

mífero; 2) aviario; 3) de animales de sangre fría, y 4) saprófitos (Wilson, 1925; Griffith, 1925; Kauffmann, 1932). Los tipos humano, bovino y murino no pueden diferenciarse serológicamente (Wells, 1944). El tipo aviario tiene un antígeno en común con los microorganismos humano y bovino, pero además posee un antígeno específico propio (Wilson, 1925). Los bacilos aviarios han sido separados en subtipos (Schaefer, 1937; Harpoth, 1938).

Una serie cuidadosa de investigaciones indican que la superficie del bacilo de la tuberculosis está compuesta de un complejo lipo-proteína-carbohidrato que estimula la producción de aglutininas y precipitinas cuando se inyecta a los animales (Freund, 1925; Mudd y Mudd, 1927). Las cepas avirulentas BCG y R_1, las virulentas H37 y C bovina y las variantes avirulentas de cepas humanas recién aisladas tienen todas esencialmente la misma estructura antigénica y son igualmente eficaces para producir cierto grado de inmunidad en los cobayos (Mudd y Fürth, 1927; Steenken y Gardner, 1943).

Los bacilos tuberculosos muertos por el calor producen cierta inmunidad, pero ésta nunca es tan buena como la inducida por las cepas vivas avirulentas R_1 y BCG (Trudeau y col., 1906; Zinsser y Petroff, 1924; Zinsser y col., 1925; Petroff y col., 1929; Opie y Freund, 1937). Las investigaciones de Olson y sus colaboradores (1947) indican que los bacilos humanos virulentos, muertos por la luz ultravioleta, son tan eficaces para inmunizar cobayos como los microorganismos BCG vivos. Las vacunas de organismos tratados por la luz ultravioleta no han sido ensayadas en el hombre; nada sabemos acerca del grado o duración de la inmunidad que puedan producir.

Anticuerpos. En los animales de experimentación aparecen con regularidad aglutininas y opsoninas a títulos bajos, pero en el hombre aparecen irregularmente y en concentraciones insuficientes para el diagnóstico.

Consecutivamente a la infección se pueden demostrar, tanto en el hombre como en los animales, precipitinas para los polisacáridos, pero no se ha hecho aplicación práctica de este fenómeno (Doan, 1930).

En las reacciones de fijación del complemento se han usado bacilos íntegros vivos, inactivados por el calor, bacilos triturados, filtrados de caldo y extractos lipoideos (Miller y Zinsser, 1916; Pinner, 1925; Wadsworth y col., 1930; Klopstock, 1941). En el 70 al 80 por ciento de los sueros de pacientes tuberculosos se ha obtenido una reacción positiva, pero en los casos iniciales y dudosos, en los cuales la reacción tendría mayor valor, suele ser negativa.

Enfermedad experimental en animales de laboratorio. Los monos y los grandes antropoides son muy sensibles a las infecciones experimentales con cepas humanas y bovinas de bacilos tuberculosos, pero relativamente resistentes al tipo aviario. Los primates adquieren espontáneamente la tuberculosis por contacto casual con el hombre.

El *cobayo* y el *conejo* son los animales más útiles para estudios de laboratorio. Solamente se requieren unos pocos bacilos para infectar cobayos y, como son susceptibles por igual a las cepas humanas y bovinas, la inoculación al cobayo es un método diagnóstico ideal para el descubrimiento de unos pocos microorganismos en material contaminado. Antes de hacer las siembras o inocular los cobayos, el *material contaminado* debe ser sometido a uno de los métodos de *concentración* descritos en el capítulo de técnicas. Por lo general, se inoculan simultáneamente dos cobayos en el tejido subcutáneo de la ingle. Después de cuatro a seis semanas se observa con frecuencia una induración en el sitio de la inyección, acompañada de ganglios linfáticos palpables. Después de seis semanas debe inyectarse intracutáneamente a los animales 0,1 c.c. de una dilución al 5 por ciento de O. T. Los animales infectados presentan una reacción local intensa que evoluciona hasta formar una úlcera abierta,

mientras que los animales no infectados sólo presentan un eritema transitorio. Los animales que dan reacción positiva con la tuberculina deben ser sacrificados; los bacilos se demuestran en los frotis y en los cultivos de las lesiones de la ingle o por inoculación de otros cobayos. Los que dan reacción negativa deben ser observados durante otras seis semanas, y entonces vueltos a probar con tuberculina. Algunas colonias de cobayos se infectan espontáneamente con *Pasteurella pseudotuberculosis*, que produce caseificación de los ganglios linfáticos y lesiones en bazo e hígado. La posibilidad de esta infección es una de las razones para insistir en la obtención de una prueba de tuberculina positiva o la demostración de microorganismos ácidorresistentes típicos en las lesiones antes de dar una inoculación al cobayo como positiva para tuberculosis.

Como se demuestra en la tabla siguiente, la inoculación animal es el método más seguro para clasificar los diversos tipos de bacilos de la tuberculosis.

PODER PATÓGENO DE LOS BACILOS TUBERCULOSOS PARA ANIMALES DE LABORATORIO

ANIMAL	TIPO HUMANO	TIPO BOVINO	TIPO AVIARIO	TIPO MURINO	BACILO DE JOHNE
Cobayo	++++	++++	0	+	0
Conejo	++	++++	+++	+	0
Ternero	+	++++	++	————	++
Aves de corral .	0	0	++++	————	————
Ratón de campo.	+	++++	+	+++	————

El conejo suele emplearse para diferenciar los tipos humano y bovino. Se inyectan dos animales por vía intravenosa, uno con 1 mg y el otro con 0,01 mg. Los bacilos se obtienen del desarrollo superficial de un caldo de cultivo: son secados con papel filtro estéril, pesados y suspendidos en 2 a 3 c.c. de solución salina fisiológica para la inyección. Si el cultivo es de tipo bovino ambos conejos mueren después de 6 a 8 semanas. Si el microorganismo es del tipo humano, el animal que recibe la dosis menor sobrevive. En ocasiones se encuentran cepas de virulencia intermedia que no se pueden diferenciar por este método.

El bacilo de la tuberculosis es un parásito interesante. Cuando penetran por vez primera en el cuerpo animal, los bacilos son rápidamente fagocitados, tanto por los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos como por los monocitos. Los neutrófilos son a su vez ingeridos por los monocitos. Como consecuencia de ello, en pocos días todos los bacilos están dentro de los monocitos, donde se multiplican sin producir a la célula daño aparente alguno, hasta que el animal desarrolla una *hipersensibilidad* o *alergia* a la tubérculoproteína. Cuando esta sensibilidad aparece, ocurre una violenta reacción entre las células y las proteínas del bacilo, resultando la muerte y caseificación de aquéllas. De manera concurrente con la hipersensibilidad se desarrolla cierto grado de inmunidad, y simultáneamente con la destrucción de las células mueren también muchos bacilos. Después de esto, los bacilos se multiplican menos rápidamente en los tejidos y hay una reacción continua entre los bacilos y las células. El último resultado depende de muchos factores, como la resistencia innata de la especie animal, el grado de hipersensibilidad desarrollado por el animal, la dosis original de microorganismos y la virulencia relativa.

En la rata, relativamente resistente, no aparece hipersensibilidad y los monocitos infectados llegan a estar repletos de bacilos sin que aparezca signo alguno de reacción entre éstos y las células huéspedes. Cuando se inyectan grandes cantidades de bacilos aviarios a conejos susceptibles, los gérmenes se multiplican y llenan los mono-

citos; la aparición de la hipersensibilidad se retrasa y no hay caseificación de las células. Sin embargo, el conejo muere después de dos a cuatro semanas, presumiblemente por las endotoxinas liberadas al irse multiplicando los bacilos. A este tipo de tuberculosis en el conejo, se le llama el *tipo Yersin* de reacción. Cuando a los conejos se les inyectan pequeñas dosis de bacilos aviarios, aparece la hipersensibilidad, tiene lugar la caseificación de las células, los bacilos son reducidos en número y el animal se puede restablecer después de desarrollar una enfermedad de tipo crónico semejante a la producida por los microorganismos de tipo humano o bovino. Para más detalles acerca de la reacción entre las células y los bacilos y los problemas de hipersensibilidad e inmunidad, deben consultarse las excelentes revisiones de Krause y Willis (1920), Krause (1925), Rich y Lewis (1927-28), Vorwald (1933), Lurie (1938) y Rich (1944).

Dienes y Schoenheit (1927-33) y Rich (1944) han investigado la naturaleza de la *hipersensibilidad* que aparece en los cobayos después de la inyección de bacilos de la tuberculosis. Dienes sostiene que en el proceso de sensibilización por un antígeno, bacteriano o de otro origen, se produce primero una sensibilidad local de los tejidos sin anticuerpos circulantes. En la tuberculosis esta sensibilidad local de los tejidos se desarrolla en alto grado pero la sensibilidad a la tuberculina no puede transferirse pasivamente por el suero. Otros antígenos, como la albúmina de huevo y los sueros, producen primero un ligero grado de sensibilidad local del tejido seguida por anticuerpos circulantes que hacen posible el fenómeno de la anafilaxia Dienes inyectó albúmina de huevo cristalina y suero de caballo a cobayos tuberculosos y encontró, al reinyectarlos después de seis días, que aparecía una reacción de tipo tuberculínico. Los anticuerpos circulantes estaban ausentes y la anafilaxia no se pudo provocar en ese tiempo, pero más tarde, cuando aparecieron precipitinas, los animales presentaron reacciones anafilácticas. Rich (1944) cree que la reacción necrótica local descrita por Dienes puede haber sido una manifestación del fenómeno de Arthus y no una verdadera reacción de tipo tuberculínico.

Tipos clínicos de infección en el hombre. El hombre es muy sensible a la *infección tuberculosa*, pero notablemente resistente a la *enfermedad tuberculosa*. En muchas zonas industriales casi el 100 por ciento de la población adulta presenta signos de haber tenido una infección tuberculosa en algún momento, como lo indica la presencia de una cutirreacción a la tuberculina positiva; sin embargo, incluso en tales lugares la mortalidad por tuberculosis puede ser tan baja como 50 por 100 000.

Los bacilos tuberculosos logran penetrar en el organismo: 1) por inhalación; 2) por ingestión, o 3) directamente a través de la piel. La inhalación es el modo más frecuente de infección y la invasión por la piel el más raro. Las manifestaciones locales de infección primaria varían según la vía de invasión. Con la inhalación la lesión primaria aparece en los pulmones y los ganglios linfáticos traqueobronquiales se infectan extensamente. Con la ingestión, la lesión primaria puede ser en la boca o amígdalas con hipertrofia de los ganglios linfáticos del cuello y se produce la llamada *adenitis cervical* o *escrófula*. Si los organismos penetran por la mucosa intestinal, la lesión primaria ocurre en la pared del intestino y se acompaña de *adenitis mesentérica* con *peritonitis* o sin ella. Cuando la entrada es por vía cutánea, aparece una ulceración en el punto de la invasión, acompañada de extensa participación de los ganglios linfáticos regionales.

Una vez introducidos los bacilos, se multiplican en forma desordenada. Los microorganismos infectantes pueden ser detenidos temporal y mecánicamente en los ganglios linfáticos de la región, pero unos días más alcanzan el conducto torácico y la circulación general y de este modo acaban infectando todo el cuerpo por

diseminación generalizada antes que puedan aparecer los estados de *hipersensibilidad* y *resistencia relativa*. La reacción a la tuberculina se hace positiva entre la cuarta y la duodécima semana después de la infección; desde que aparece, los bacilos, si se diseminan, lo hacen muy lentamente por los linfáticos y la corriente sanguínea.

La mayor parte de los bacilos esparcidos por todo el cuerpo durante el comienzo de la infección primaria no encuentran localización adecuada para su desarrollo y desaparecen, pero algunos permanecen en focos microscópicos y pueden dar lugar, uno a diez años más tarde, a infecciones de *huesos, articulaciones, pulmones* y otros órganos. De particular importancia son los que alcanzan el cerebro. Algunos producen tuberculomas que se encapsulan y curan o se calcifican, mientras que otros se rompen en las meninges e inician una *meningitis* tuberculosa seguida de invasión de la corriente sanguínea, constituyendo la llamada *tuberculosis miliar*. La tuberculosis miliar también puede resultar de la ruptura de un ganglio linfático caseoso en una vena o en un vaso linfático de mayor calibre, sin producción de meningitis. Excepto en niños menores de dos años de edad, la mortalidad por tuberculosis primaria es notablemente baja aun cuando los bacilos están ampliamente distribuídos por todo el cuerpo.

Reinfección tuberculosa. Esta es, casi exclusivamente, una enfermedad de los pulmones. La mayor parte de los anatomopatólogos creen que la reinfección se produce por extensión de la infección a los pulmones desde un foco caseoso resultante de una infección primaria en el sistema linfático. Algunos clínicos piensan que la reinfección es principalmente exógena, originada con nuevos bacilos inhalados por los pulmones. Como el paciente es ya hipersensible a la tuberculina cuando la reinfección tiene lugar, se producen síntomas intensos y se establece una *tuberculosis pulmonar crónica*. La forma pulmonar de la enfermedad es la causa principal de morbilidad y mortalidad.

Tuberculosis congénita. Aun cuando existe esta forma de enfermedad, es muy rara (Hughesdon, 1946). La mayor parte de los casos de tuberculosis de la infancia, aun en niños de sólo algunas semanas de edad, son *adquiridos en el hogar*.

Silicotuberculosis. La inhalación de polvo inorgánico rico en sílice libre daña a los pulmones y predispone al individuo para el desarrollo de tuberculosis pulmonar. La mortalidad por tuberculosis en trabajadores expuestos al polvo silíceo puede ser tan alta como 190 por 100 000 comparada con 65 para los trabajadores no expuestos a dicho polvo (Drury, 1921). En algunas minas la mortalidad es mucho más elevada (Gardner, 1934). Gardner produjo silicosis experimental en cobayos y estudió la influencia de una infección asociada con bacilos tuberculosos. La presencia de sílice disminuía la resistencia de los tejidos hasta el punto que la cepa R_1 relativamente avirulenta producía con regularidad infecciones progresivas mortales en los cobayos silicóticos (Gardner, 1929, 32, 33).

El polvo de materiales orgánicos y otros polvos inorgánicos que no contienen sílice no predisponen al individuo al desarrollo de silicotuberculosis.

Transmisión. En la práctica, el hombre es el único portador de tuberculosis en los Estados Unidos por el momento presente. La tuberculosis ha sido eliminada casi por completo de los rebaños de ganado vacuno como resultado de las pruebas de tuberculina en gran escala, seguidas de la matanza de todos los animales que dieron reacción positiva. La posibilidad de infección por cualquier foco residual se puede eliminar por la pasteurización sistemática de la leche y productos lácteos. La infección con bacilos aviarios es extremadamente rara (Rich, 1944).

Algunos individuos desarrollan una tuberculosis pulmonar crónica con formación de cavidades en los pulmones y bacilos tuberculosos en el esputo, sin síntomas evi-

dentes de enfermedad. Los *portadores* de bacilos tuberculosos van diseminando la infección por toda la comunidad cuando circulan y atienden a sus ocupaciones habituales. Para descubrir a los portadores es necesario que se examine el esputo con cuidado, independientemente del diagnóstico clínico y la falta aparente de síntomas pulmonares.

El examen radiológico periódico de los pulmones en adultos, bien sea individualmente o en revisiones en masa, proporciona la protección máxima, tanto al individuo como a la comunidad. El paciente en quien se encuentran lesiones activas o inactivas, con esputo positivo, debe ser tratado en un sanatorio hasta su curación o, por lo menos, hasta que haya aprendido cómo debe tratar sus esputos para no poner en peligro a los demás.

El contacto íntimo con un portador de bacilos en el hogar o en agrupaciones sociales o profesionales es la causa de la mayor parte de los nuevos casos de tuberculosis. Es fácil demostrar el contacto familiar, pero debido al largo período de incubación es mucho más difícil seguir las infecciones adquiridas fuera del círculo familiar. Pueden transcurrir de ocho a diez años entre el momento de la infección y la aparición de la enfermedad clínica.

Los bacilos tuberculosos recién aislados del esputo presentan notable uniformidad en cuanto a virulencia. No hay pruebas de que los bacilos tuberculosos aislados en los Estados Unidos, donde hay una mortalidad de 40 por 100 000, sean menos virulentos que los aislados en Alaska, donde la mortalidad entre la población general es de 360 por 100 000 y de 3 600 por 100 000 en algunas comunidades *esquimales* (Barnett y col., 1947).

En 1917, Theobald Smith describió los factores que regulan la virulencia del bacilo tuberculoso humano. Si una cepa aumenta repentinamente de virulencia y el huésped muere antes que los bacilos puedan ser transmitidos a otro individuo, los bacilos son enterrados con su víctima. Por otra parte, si la virulencia cae por bajo de cierto nivel crítico, no se producen lesiones pulmonares abiertas ni se transmiten los microorganismos. Por parte del bacilo tuberculoso, el punto débil en el ciclo de transmisión de la tuberculosis estriba en el número muy grande de individuos que deben ser infectados para producir un solo caso crónico con cavidad abierta en los pulmones que disemine la enfermedad. El descubrimiento y el aislamiento del portador romperá la cadena de transmisión.

La resistencia congénita del paciente, probablemente cuenta más en la determinación del curso de la tuberculosis que cualquier otro factor, incluyendo el tratamiento moderno. Los médicos creyeron durante siglos que la tuberculosis era hereditaria en ciertas familias, que algunos grupos humanos eran altamente receptivos y otros muy resistentes a la enfermedad. Estas *supersticiones* fueron descartadas por el médico moderno desde que Koch descubrió el bacilo de la tuberculosis. Sin embargo, la importancia básica de la *constitución* del paciente ha sido probada por estudios genéticos. Por reproducción selectiva se han obtenido razas de cobayos que eran: 1) más sensibles, o 2) menos susceptibles que sus antecesores (Wright y Lewis, 1921). Aun se han logrado pruebas más convincentes por la cría selectiva de conejos (Lurie, 1941). Los estudios comparativos de *gemelos monocigóticos* y *heterocigóticos* han demostrado que en un porcentaje muy grande de casos, los primeros reaccionan de manera idéntica a la infección tuberculosa (Verschuer, 1939-40; Kallmann y Reisner, 1943).

Tiene particular importancia la variación extrema observada en las unidades gemelares monocigóticas: algunas parejas fueron muy resistentes mientras que otras eran muy sensibles a la enfermedad progresiva.

El estudio de Puffer (1944) de familias tuberculosas y no tuberculosas en Tennessee demuestra que algunas familias son más susceptibles a la tuberculosis que otras, y que estas familias sensibles se están reduciendo gradualmente en número por su incapacidad para reproducirse. Este mecanismo selectivo automático viene operando durante siglos en Europa y entre los pueblos descendientes de europeos, lo cual explica en parte la disminución continua en la mortalidad por tuberculosis. Los judíos no tienen resistencia aumentada a la *infección tuberculosa*, pero tienen una resistencia evidente a la enfermedad tuberculosa. Por el contrario, las generaciones primera y segunda de los emigrantes irlandeses e italianos son muy sensibles a la enfermedad. Es bien conocida la asombrosa susceptibilidad del indio americano del Norte y del esquimal.

Por lo que respecta a los Estados Unidos, el negro y el indio mexicano tienen una mortalidad netamente más alta que los caucásicos. El mexicano tiene aún menor resistencia que el negro.

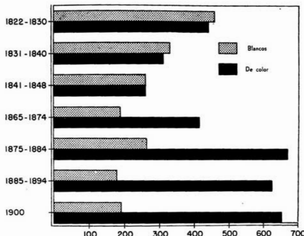


FIG. 80. MORTALIDAD POR TUBERCULOSIS CONSUNTIVA EN CHARLESTON, S. C., 1822-1900.

(Según Jones, Actas 2ª Reunión Anual de la Natl. Tuberculosis Assn., 1906, pág. 97.)

La diferencia entre la raza blanca y la negra se demuestra por los estudios de Roth (1938), en los cuales comparó las proporciones de soldados blancos y negros atacados en el ejército de EE. UU entre 1922 y 1936. La alimentación, vestido, habitación, cuidados médicos y otros factores ambientales fueron casi idénticos. La morbilidad fué de 210 por 100 000 para los soldados blancos, de 256 para los soldados negros; pero la mortalidad fué de 24 por 100 000 para los blancos y de 99 para los negros.

La proporción de muertes en los negros fué aproximadamente cuatro veces mayor que en los blancos. Además, la enfermedad es rápidamente mortal en los negros; el promedio de duración de una infección mortal en los negros es la cuarta parte que en los blancos. La menor duración de la enfermedad compensa la mayor mortalidad, así que en la población negra cada persona está expuesta casi el mismo número de días a la infección potencial que en la blanca. Esta conclusión se confirma por la revisión de las reacciones tuberculínicas en las dos razas; se encuentra aproximadamente el mismo número de casos positivos en niños negros y en blancos (Asserson, 1927; McCain, 1929).

En la mayor parte de los casos de mortalidad excesivamente alta, como la que existe en indios, esquimales, negros, mexicanos, filipinos y portorriqueños, hay una combinación de susceptibilidad racial y pobreza. El factor ambiental es mucho más importante, no sólo en sentido cuantitativo, sino porque puede ser corregido en una sola generación, mientras que el factor genético requiere siglos.



Fig. 81. Mortalidad por tuberculosis pulmonar, según la profesión.

(Sacado de los datos suministrados por Natl. Tuberculosis Assn.)

La figura 80, compuesta por los datos recogidos en Charleston, S. C., muestra que entre 1820 y 1860 el ambiente físico relativamente bueno impuesto por la esclavitud compensaba totalmente la mayor sensibilidad racial de los negros para la tuberculosis.

La importancia del medio se ilustra por modos diferentes en la figura 81. La mortalidad del obrero no especializado es siete veces mayor que la del profesional.

La influencia de la edad, sexo y raza se demuestra en la figura 82. Hace cuarenta años la curva de los blancos semejaba a la de la raza de color en 1940. Frost (1939) explica el aumento relativo en el porcentaje de tuberculosis en los grupos más viejos como residuo de una proporción mucho más alta de infección en la generación anterior y predice una disminución apreciable durante la próxima generación. Mientras tanto, el médico debe estar alerta por la frecuencia de tuberculosis en los pacientes de edad mediana y madura. Para mayores detalles concernientes a la epidemiología de la tuberculosis, deben consultarse las excelentes revisiones de Rich (1944) y Drolet (1947).

Productos biológicos. No hay sueros terapéuticos para la tuberculosis. La tuberculina vieja (O. T.) y el derivado proteínico purificado (D. P. P.), más nuevo, se emplean en estudios epidemiológicos y en el diagnóstico clínico para descubrir los individuos infectados. El bacilo de Calmette y Guerin es una vacuna viva usada para producir cierto grado de *inmunidad activa* contra la tuberculosis.

Tratamiento. El éxito en el tratamiento de la tuberculosis depende en principio de las medidas que conservan y apoyan la resistencia innata y adquirida del paciente a la enfermedad. Reposo mental y físico, buena alimentación, aire fresco y ambiente

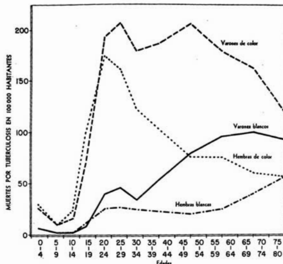


Fig. 82. Mortalidad por tuberculosis entre la población blanca y la de color. Estados Unidos, 1945.

(Sacado de los datos suministrados por Natl. Tuberculosis Assn.)

agradable, de preferencia en un sanatorio, brindan al paciente la mejor oportunidad para restablecerse. El reposo local de los pulmones se intenta por procedimientos como frenicectomía, neumotórax, neumoperitoneo y toracoplastia. Los pacientes tuberculosos necesitan mucho ácido ascórbico (vitamina C) y posiblemente también de vitaminas A y D. La dieta suplementada con estas vitaminas suele ser ventajosa (McConkey, 1941).

La *quimioterapia* con promina y promizol ha sido desalentadora, si bien parece haber curado algunos casos de tuberculosis miliar (Lincoln y col., 1948).

La *estreptomicina,* descubierta por Waksman en 1944, tiene valor definido, pero limitado (Waksman, 1947). La estreptomicina ha sido muy útil en el tratamiento de abscesos tuberculosos crónicos y en la terapéutica de la tuberculosis genitourinaria, laríngea, traqueobronquial e intestinal. Se han observado los resultados más espectaculares en la meningitis tuberculosa y en la tuberculosis miliar, en las cuales se ha reducido la mortalidad del 100 por ciento al 50 por ciento aproximadamente (Lincoln y col., 1948). La neumonía tuberculosa puede ser estabilizada o curada por la estreptomicina (Farrington y col., 1947; Smith, A., 1947).

La terapéutica quirúrgica, la quimioterápica y el empleo de antibióticos son complementarios y no pueden substituir al tratamiento básico por el reposo.*

Prevención. La busca de un método eficaz para producir inmunidad activa contra la tuberculosis ha ido en progreso desde el tiempo de Koch. Las vacunas hechas con bacilos muertos por el calor producen muy poca inmunidad. Sin embargo, los bacilos tuberculosos muertos por radiaciones ultravioletas, parecen retener su poder antigénico y proporcionan buena protección cuando se inyectan a cobayos (Olson y col., 1947). Hasta hoy, tales vacunas no han sido valoradas en el hombre.

Bacilo de Calmette y Guerin (BCG). Desde 1922, más de 2 000 000 de individuos han sido vacunados con cultivos vivos de BCG. Este organismo tiene virulencia baja y relativamente fija; es algo más atenuado que la cepa R_1 del laboratorio Saranac Lake. Al principio de ser introducida, en 1922, estaba ligeramente menos atenuada que en la actualidad (Petroff, 1927). En el momento actual, casi todos los autores están de acuerdo en que el BCG está completamente atenuado y no puede producir enfermedad en el hombre. Sin embargo, es esencial la comprobación constante para prevenir una mayor pérdida de virulencia y las correspondientes propiedades inmunizantes.

La vacuna sólo debe administrarse a quienes tengan reacción negativa para la tuberculina con 0,005 mg de D.P.P. ó 1 mg de A.T.; y el grupo inyectado debe ser protegido de la exposición al contagio por un mínimo de dos a tres meses. Si hacia el final del tercer mes no se desarrolla una reacción positiva con una dosis mayor de tuberculina, la prueba puede ser repetida. Por lo general se obtienen reacciones positivas a la tuberculina en el 92 al 100 por ciento de los individuos que reciben la vacuna; el estado de hipersensibilidad persiste por tres a cuatro o más años. La vacunación accidental de un individuo positivo a la tuberculina da lugar al rápido desarrollo, en el sitio de la inoculación, de una ulceración superficial que persiste por algunas semanas, pero que no perjudica al paciente.

El método original de Calmette de administrar los bacilos por la boca ha sido abandonado porque sólo produce reacciones positivas a la tuberculina en menos del 50 por ciento de los casos.

El método *subcutáneo* de vacunación es eficaz, pero con frecuencia produce abscesos en el tejido subcutáneo y supuración de los ganglios linfáticos regionales. El método *intracutáneo* de Wallgren (1942-43) se ha usado extensamente (Aronson y Palmer, 1946). De 10 a 15 días después de la inoculación aparece una ulceración muy superficial que cura por completo en algunas semanas. Los ganglios linfáticos regionales suelen estar algo hipertrofiados pero rara vez supuran.

Rosenthal y colaboradores (1945) y Birkhaug (1946) han creado un método de inoculación *transcutánea* o de punturas múltiples. La reacción local es ligera y los ganglios linfáticos regionales no supuran. Este método tiene las desventajas teóricas

* El ácido paraaminosalicílico (PAS) tiene una acción bactericida sobre el bacilo de la tuberculosis descubierta por Lehmann en Suecia en 1946. Se administra en dosis de 12 a 30 gramos diarios durante varias semanas, con un día de descanso semanal. Es menos activo que la estreptomicina, pero tarda más en crear resistencia en los gérmenes. Sus indicaciones óptimas son las tuberculosis locales accesibles; también se recomienda su uso al mismo tiempo que la estreptomicina y en los casos de resistencia a este antibiótico. (N. del T.)

de la cutirreacción original de la tuberculina de Von Pirquet ya que no se puede medir la dosis efectiva real.

Una serie de estudios cuidadosamente vigilados han demostrado la innocuidad y la eficacia de la vacunación con BCG (Heimbeck, 1928; Holm, 1946; Wallgren, 1942-43; Rosenthal y col., 1945; Aronson y Palmer, 1946; Aronson, 1948).

Heimbeck vacunó 394 enfermos estudiantes negativos a la tuberculina, con BCG y mantuvo 280 enfermeras negativas como testigos. En el grupo testigo hubo 171 casos y 17,8 muertes de tuberculosis por 1 000 personas y por año de observación. Entre las 287 que se hicieron positivas a la tuberculina como resultado de la vacunación, hubo 8,8 casos de tuberculosis y 1,1 muertes por 1 000 personas y año de observación. En los estudios cuidadosamente planeados y vigilados de Aronson de vacunación con BCG en indios americanos, se inyectaron casos alternos con BCG y con solución salina fisiológica. Al cabo de dos años hubo un número de fallecimientos por tuberculosis cuádruple en los testigos que en el grupo vacunado; el de enfermos era nueve veces mayor entre los primeros que en los segundos. Conforme se van continuando las observaciones año por año, el grado de protección relativa proporcionado por la vacunación BCG parece más definido (Aronson, 1948).

La vacunación activa con BCG no se recomienda en Estados Unidos para inmunización en masa. La producción artificial de una reacción positiva a la tuberculina anula el valor de esta reacción como medida de la eficacia del programa general de lucha antituberculosa para disminuir la transmisión de la enfermedad. Además, el grado de inmunidad provocado por la vacuna BCG sólo es relativo y no es comparable con el producido por las vacunas antitíficas. Sin embargo, la vacunación con BCG se puede recomendar para grupos especiales en los cuales las proporciones de morbilidad y mortalidad son altas y los factores que favorecen la rápida transmisión de los microorganismos no pueden modificarse en poco tiempo. Tales grupos incluyen a los indios, los habitantes de ciertos barrios pobres en las grandes ciudades, los residentes en instituciones del Estado para enfermos mentales y, por último, enfermeras, estudiantes de Medicina y asistentes al hospital cuyos deberes profesionales hacen necesaria una exposición casi constante a la infección.

La lucha contra la tuberculosis es un problema muy complejo, que comprende tanto el aislamiento de los *portadores* en sanatorios como el mejoramiento general de las condiciones económicas.

La prevención de la tuberculosis depende del descubrimiento y aislamiento del portador. La lepra fué eliminada de Europa y de la mayor parte de los países europeos durante los siglos quince y dieciséis por el pronto descubrimiento y el aislamiento rígido de todos los leprosos. No es demasiado optimismo creer que la tuberculosis puede ser eliminada totalmente por la aplicación intensa y prolongada de los métodos ahora en uso para luchar contra la enfermedad.

BIBLIOGRAFIA

ANDERSON, R. J. *Phys. Rev.*, 1932, 12:166.
——— *Chem. Reviews*, 1941, 29:225.
ARONSON, J. D. Chapter on "Tuberculosis in Cold-Blooded Animals" in *The Mycobacterial Diseases*, The Science Press, Lancaster, Pa., 1938, page 80.
——— *J. Infect. Dis.*, 1926, 39:315.
——— *J. Infect. Dis.*, 1929, 44:215.
——— *Am. Rev. Tuberc.*, 1934, 30:727.
——— and PALMER, C. E. *Pub. Health Repts.*, 1946, 61:801.
——— *Trans. College of Physicians*, Philadelphia, 1948 (en prensa).
ASSERSON, M. A. *Am. Rev. Tuberc.*, 1927, 16:359.
`ALDWIN, E. R., PETROFF, S. A., and GARDNER, L. S. *Tuberculosis*, Philadelphia, 1927.

BALL, E. G. *J. Biol. Chem.*, 1934, 106:515.
BARNETT, H., FIELDS, J., MILLES, G., SILVERSTEIN, J., and BARNSTEIN, A. *J.A.M.A.*, 1947, 135:500.
BAUMGARTEN, P. *Centralbl. f. d. med. Wissenschr.*. 1878, 16:227; 1882, 20:257, 337.
BEAVEN, P. W., and BAYNE-JONES, S. *J. Infect. Dis.*, 1931, 49:399.
BEKKER, J. H., and TASMAN. *Arch. f. Hyg. u. Bakt.*, 1941, 127:7.
BIRKHAUG, K. *Am. Rev. Tuberc.* (Abstracts), 1946, 54:23.
BLACKLOCK, J. W. S. *Special Repts. Ser. Med. Research Council*, London, 1932, No. 172.
BROWNLEE, J. *Med. Res. Comm.*, London, 1918, p. 43.
CALMETTE, A. *Bull. de l'Inst. Pasteur*, 1924, 22:593; 1928, 26:889.
——— *J.A.M.A.*, 1931, 96:58.
——— *Compt. rend. Acad. d. Sc.*, June 17, 1907.
——— *L'Infection bacillaire et la tuberculose*, 1920, 110:457.
CORPER, H. J. *J.A.M.A.*, 1928, 91:371.
CROSSMON, G., and LOEWENSTEIN, E. *J. Lab. & Clin. Med.*, 1943, 28:1349.
CUTTINO, J. T., and MCCABE, A. M. *Am. J. Path.*, 1948, en prensa.
DAINES, L. L., and AUSTIN, H. *Am. Rev. Tuberc.*, 1933, 27:600; *ibid.*, 1934, 30:209.
DIENES, L., and SCHOENHEIT, E. W. *Am. Rev. Tuberc.*, 1929, 92:105; y una serie de artículos de Dienes en *J. Immunol.*, 1927 al 1933.
DOAN, C. A. *Med. Clin. North Am.*, 1930, 14:279.
——— *N. Eng. J. M.*, 1930, 203:862.
DROLET, G. J. El capítulo sobre "Epidemiology of Tuberculosis" en *Clinical Tuberculosis*, F. A. Davis Co., Philadelphia, 1947.
DRURY. *Pub. Health Rep.*, Wash., 1921, 5:36.
DUBOS, R. J., and DAVIS, B. D. *J. Exper. M.*, 1946, 83:409.
FARRINGTON, R. F., HULL-SMITH, H., BUNN, P. A., and MCDERMOTT, W. *J.A.M.A.*, 1947, 134:679.
FELDMAN, W. H., MANN, F. C., and HINSHAW, H. C. *Am. Rev. Tuberc.*, 1942, 46:187.
FREUND, J. *Am. Rev. Tuberc.*, 1925, 12:124.
FROST, W. H. *Am. J. Hyg.*, 1939, 30:Sect. A, 91.
GARDNER, L. U. *J. Indust. Hyg.*, 1932, 14:18.
——— *Am. J. Pub. Health*, 1933, 23:1240.
——— *Am. Rev. Tuberc.*, 1929, 20:833.
——— *J.A.M.A.*, 1934, 103:745.
——— *Am. Rev. Tuberc.*, 1946, 53:511.
GRIFFITH, A. S. *Tubercle*, 1925, 6:417.
HARPOTH, H. *Ztschr. f. Tuberk.*, 1938, 79:140.
HEILMAN, D. H., and SEIBERT, F. B. *Am. Rev. Tuberc.*, 1946, 53:71.
HEIMBECK, J. *Ztschr. f. Tuberk.*, 1928: 52:378.
HINSHAW, H. C., FELDMAN, W. H., and PFUETZE, K. H. *J.A.M.A.*, 1946, 132:778.
HOLM, J. *Pub. Health Rep.*, 1946, 61:1298.
——— and LESTER, V. *Pub. Health Rep.*, 1947, 62:847.
HUGHESDON, M. R. *Arch. Dis. Child.*, 1946, 21:121.
JOHNE, H. A., and FROTHINGHAM, L. *Deutsche Ztschr. f. Thiermed.*, 1895, 21:438.
KAHN, M. C. *Am. Rev. Tuberc.*, 1929, 20:150.
——— *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1933, 30:577.
——— and SCHWARZKOPF, H. *J. Bacteriol.*, 1933, 25:157.
KALLMANN, F. J., and REISNER, D. *Am. Rev. Tuberc.*, 1943, 47:549.
KAUFFMANN, F. *Ztschr. f. Hyg. u. Infectionskrankh.*, 1932, 114:121.
KELSER, R. A. *Manual of Veterinary Bacteriology*, Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1933, p. 308.
KEMPNER, W. *Am. Rev. Tuberc.*, 1939, 40:157.
KIERNAN, J. A., and WIGHT, A. E. *U. S. Dep. Agric., Farmer's Bulletin No. 1069*, Rev. 1930.
KLOPSTOCK, F. *Brit. J. Tuberc.*, 1941, 35:146.
KNAYSI, G. *J. Infect. Dis.*, 1929, 45:13.
KOCH, R. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1891, 1901.
——— *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt., 1890.
——— *Arb. a. d. k. Gsndhtsamte.*, 1882, 11.
——— *Berl. klin. Wchnschr.*, 1882, 19:221.
——— *Mitt. a. d. Kaiserl. Gsndhtsamte.*, 1884, 2.
——— and RABINOWITSCH. *Virchow's Arch.*, 1907, Beiheft, 190.
KOLLE, W. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1932, 58:304.
KRAUSE, A. *Am. Rev. Tuberc.*, 1925, 11:349.
——— and WILLIS, H. S. *Am. Rev. Tuberc.*, 1920, 4:563.
KRETSCHMER, O. S. *J. Lab. & Clin. Med.*, 1934, 19:350.
LESUK, A., and ANDERSON, R. J. *J. Biol. Chem.*, 1940, 136:603.
LINCOLN, E. M., STONE, S., and HOFFMAN, O. R. *Bull Johns Hopkins Hosp.*, 1948, 82:56.
——— KIRMSE, T. W., and DEVOTO, E. *J.A.M.A.*, 1948, 136:593 (en prensa).
LONG, E. R. *Am. Rev. Tuberc.*, 1925, 9:215; 1926, 13:393; 1930, 22:467.
——— *J. Infect. Dis.*, 1925, 37:368.

——— *The Newer Knowledge of Bacteriology and Immunology*, Chicago, 1928, Chap. 76, p. 1020.
——— *Science*, 1938, 87:23.
——— and SEIBERT, F. B. *Am. Rev. Tuberc.*, 1937, 35:281.
LÖWENSTEIN, E. *München, med. Wchnschr.*, 1930, 77:1662; 1931, 78:261.
LURIE, M. B. El capítulo sobre "Immunity to Acid-fast Bacterial Diseases" en *The Mycobacterial Diseases*, The Science Press, Lancaster, Pa., 1938, page 25.
——— *Am. Rev. Tuberc.* (Supplement), 1941, 44:1.
——— *J. Exper. M.*, 1942, 75:247.
——— *J. Exper. M.*, 1944, 79:559.
McCAIN, P. P. *South. Med. J.*, 1929, 22:310.
McCONKEY, M. *Am. Rev. Tuberc.*, 1941, 43:425.
McDERMOTT, W., MUSCHENHEIM, C., HADLEY, S. J., BUNN, P. A., and GORMAN, R. V. *Ann. Int. Med.*, 1947, 27:769.
MAFUCCI, A. *Ztschr. f. Hyg. u. Infectionskrankh.*, 1892, 11:445.
MANTOUX, C. *Compt. rend. Acad. d. Sc.*, 1908, 147:355.
——— *Compt. rend. Soc. de Biol.*, 1909, 67:356.
MELLON and FISHER. *J. Infect. Dis.*, 1932, 51:117.
——— *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1933, 30:663.
MELLON and JOST. *Am. Rev. Tuberc.*, 1929, 19:483.
MELLON, RICHARDSON and FISHER. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1932, 30:80.
MERRILL. *J. Bacteriol.*, 1930, 20:235.
MIDDLEBROOK, G., DUBOS, R. J., and PIERCE, C. *J. Exper. M.*, 1947, 86:175.
MILGRAM, L., LEVITT, I., and UNNA, M. S. *Am. Rev. Tuberc.*, 1947, 55:144.
MILLER, H. R., and ZINSSER, H. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1916, 13:134.
MOHLER, J. R. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1908, 41.
MÖLLGAARD. *Chemotherapy of Tuberculosis*, Copenhagen, 1924.
MORO, E. *München. med. Wchnschr.*, 1908, 55:216.
MUCH. *Berl. klin. Wchnschr.*, 1908, 45:700.
MUDD, S., and FÜRTH, J. *J. Immunol.*, 1927, 13:369.
——— and MUDD, E. B. H. *J. Exper. M.*, 1927, 46:167.
——— and ANDERSON, T. F. *J.A.M.A.*, 1944, 126:561, 632.
NOCARD. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1898.
NOVY, F. G., and SOULE, M. H. *J. Infect. Dis.*, 1925, 36:168.
OATWAY, W. H., and STEENKEN, W., JR. *J. Infect. Dis.*, 1936, 59:306.
OLSON, B. J., HABEL, K., and PIGGOTT, W. R. *Pub. Health Rep.*, 1947, 62:293.
OPIE, E. L., and FREUND, J. *J. Exper. M.*, 1937, 66:761.
PAINE, T. F., MURRAY, R., SEELER, A. O., and FINLAND, M. *Ann. Int. Med.*, 1947, 27:494.
PAPPENHEIM. *Berl. klin. Wchnschr.*, 1898.
PETROFF, S. A. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1915, 26:276.
——— *J. Am. M. Ass.*, 1927, 89:285.
——— *Am. Rev. Tuberc.*, 1929, 20:275.
——— *N. Eng. J. M.*, 1932, 206, 438.
———, BRANCH, A., and STEENKEN, W. *Am. Rev. Tuberc.*, 1929, 19:9.
———, BRANCH, A., and JENNINGS, F. B., JR. *J. Immunol.*, 1929, 16:233.
——— and STEENKEN, W., JR. *J. Exper. M.*, 1930, 51:831.
——— and STEENKEN, W. *J. Exper. M.*, 1930, 51:831.
——— and STEWART, F. W. *J. Immunol.*, 1926, 12:97.
PIERCE, C., DUBOS, R. J., and MIDDLEBROOK, G. *J. Exper. M.*, 1947, 86:159.
PINNER, M. *Am. Rev. Tuberc.*, 1925, 11; 1925, 12.
POPE, H., and SMITH, D. T. *Am. Rev. Tuberc.*, 1946, 54:559.
PORTER, K. R., and YEGIAN, D. *J. Bacteriol.*, 1945, 50:563.
PUFFER, R. R. *Familial Susceptibility to Tuberculosis*, Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass., 1944.
RABINOWITSCH, L. *Ztschr. f. Hyg. u. Infectionskrankh.*, 1897, 26:90.
REED, G. B., and RICE, C. E. *J. Bacteriol.*, 1929, 17:407.
——— y col. *Can. J. Research*, 1931, 4:389; 1931, 5:111; 1932, 6:622.
——— *J. Immunol.*, 1932, 23:385.
RICH, A. R. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1930, 47:189.
——— *The Pathogenesis of Tuberculosis*, Charles C. Thomas, Springfield, Ill., 1944.
——— and LEWIS, M. R. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1927-28, 25:596.
RIVOLTA, G. *Anat. Fisiol.*, 1889, 1:122.
ROSENTHAL, S. R., BLAHD, M., and LESLIE, E. I. *J. Pediatrics*, 1945, 26:470.
ROTH, R. B. *Am. Rev. Tuberc.*, 1938, 38:197.
SABIN, F. R. *Phys. Rev.*, 1932, 12:141.
——— *J. Exper. M.*, 1938, 68:837.
——— *Am. Rev. Tuberc.*, 1941, 44:415.
——— and JOYNER, A. L. *J. Exper. M.*, 1938, 68:853.
——— and JOYNER, A. L. *J. Exper. M.*, 1938, 68:659.
SCHAEFER, W. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1937, 58:388.

SEIBERT, F. B. *Bacteriol. Rev.*, 1941, 5:69.
——— *Am. Rev. Tuberc.*, 1941, 44:1.
——— *Chem. Rev.*, 1944, 34:107.
——— PEDERSON, K. O., and TISELIUS, A. *J. Exper. M.*, 1938, 68:413.
SMITH, A. *J.A.M.A.*, 1947, 135:634.
SMITH, C. R. *Am. Rev. Tuberc.*, 1942, 45:334.
SMITH, THEOBALD. *J.A.M.A.*, 1917, 68:669.
——— *J. Exper. M.*, 1898, 3:451; 1901, 6:1.
——— *Tr. Ass. Am. Physicians*, 1896, 11:75.
——— *Med. News*, 1902.
——— *J. Med. Research*, 1905, 13:253, 405.
SMITHBURN, K. C. *J. Exper. M.*, 1935, 62:645.
——— *J. Exper. M.*, 1936, 63:95.
——— *Am. Rev. Tuberc.*, 1937, 36:659.
——— *Am. Rev. Tuberc.*, 1937, 36:637.
SOLTYS, M. A., and TAYLOR, A. W. *J. Path. & Bacteriol.*, 1944, 56:173.
STEENKEN, W., OATWAY, W. H., and PETROFF, S. A. *J. Exper. M.*, 1934, 60:515.
STEENKEN, W., JR. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1935-36, 33:253.
——— *Am. Rev. Tuberc.*, 1940, 42:422.
——— and GARDNER, L. U. *Yale J. Biol & Med.*, 1942-43, 15:393.
——— and GARDNER, L. U. *Am. Rev. Tuberc.*, 1946, 54:51.
STEFANSKY, W. K. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt. Orig. 1902, 33:481.
STILES, G. W. Capítulo sobre "Tuberculosis in Domestic Animals" en *The Mycobacterial Diseases*, The Science Press, Lancaster, Pa., 1938, page 42.
TAYLOR, G. *Am. Rev. Tuberc.*, 1939, 40:236.
TENNENT, D. M., and WATSON, D. W. *J. Immunol.*, 1942, 45:179.
TRUDEAU, E. L., BALDWIN, E. R., and KINGHORN, H. M. *J. Med. Research*, 1906, 12:169.
VERA, H. D., and RETTGER, L. F. *J. Bacteriol.*, 1938, 35:21.
——— and RETTGER, L. F. *J. Bacteriol.*, 1940, 39:659.
VERSCHUER, O. VON. *Proc. Roy. Soc. London*, Series B, 1939-40, 128:62.
VILLEMIN, J. A. *Compt. rend. Acad. d. Sc.*, 1865, 61:1012.
VOLLMER, H., and GOLDBERGER, E. W. *Am. J. Dis. Child.*, 1937, 54:1019; *ibid.*, 1939, 58:527.
VON PIRQUET, C. *Wien. klin. Wchnschr.*, 1907, 20:1123.
——— *Med. Klin.*, 1907, 3:1197.
VORWALD, A. S. *Am. Rev. Tuberc.*, 1933, 27:270.
WADSWORTH, A. B., MALTANER, E. J., and STEVENS, B. S. *Am. Rev. Tuberc.*, 1930, 22:539.
WAKSMAN, S. A. *J.A.M.A.*, 1947, 135:478.
WALLGREN, A. *Yale J. Biol. & Med.*, 1942-43, 15:411.
WEBB, G. B. *Tuberculosis*, Paul B. Hoeber, Inc., Harper & Brothers, New York, 1936.
WEIL, M. L., CUTTINO, J. T., and MCCABE, A. M. En prensa, 1948.
WEINZIRL, J., and DINGLE, J. H. *J. Bacteriol.*, 1932, 23:281.
WELLS, A. G. *Lancet*, 1937, 1:1221.
——— *Brit. J. Exper. Path.*, 1938, 19:324.
——— Comunicación personal, 1944, a Topley & Wilson, *Principles & Practices of Bacteriology*, 3rd ed., Williams & Wilkins Co., Baltimore.
WELLS, H. G., and LONG, E. R. *The Chemistry of Tuberculosis*, 2nd ed., Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1932.
WILSON, G. S. *J. Path. & Bacteriol.*, 1925, 28:69.
WRIGHT, S., and LEWIS, P. A. *Am. Naturalist*, 1921, 55:20.
WYCKOFF, R. W. G., and SMITHBURN, K. C. *J. Infect. Dis.*, 1933, 53:201.
——— *Am. Rev. Tuberc.*, 1934, 29:389.
YEGIAN, D., and BAISDEN, L. *J. Bacteriol.*, 1942, 44:667.
——— and PORTER, K. R. *J. Bacteriol.*, 1944, 48:83.
——— and KURUNG, J. *Am. Rev. Tuberc.*, 1947, 56:36.
——— and VANDERLINDE, R. J. En prensa, 1948.
ZIEHL, F. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1882, 8:451, 1883, 9:247.
ZINSSER, H., and PETROFF, S. A. *J. Immunol.*, 1924, 9:85.
——— WARD, H., and JENNINGS, F. B., JR. *J. Immunol.*, 1925, 10:719.

CAPITULO XXVIII

MYCOBACTERIUM LEPRAE Y LEPRA

Familia: *Mycobacteriaceae* Chester. Género: *Mycobacterium* Lehmann y Neumann. Especie: *Mycobacterium leprae* (Armauer-Hansen) Lehmann y Neumann

MYCOBACTERIUM LEPRAE

La lepra, como la tuberculosis, parece haber sido adquirida por el hombre como inconveniente derivado de la civilización. Los antiguos escritos de India, China y Palestina incluyen descripciones de una enfermedad que probablemente era la lepra. Hipócrates (400 años a. de C.) no la describió, pero fué reconocida en el siglo siguiente por Aristóteles (345 a. de C.). La lepra se extendió desde Grecia a Roma, que sirvió como foco para la invasión del oeste de Europa. Los europeos, a su vez, infectaron a los habitantes de América, Asia y algunas islas del centro y sur del Pacífico.

En 1946 se ha calculado que el número de leprosos en el mundo era de 3 500 000 (Rogers y Muir, 1946).

La evolución de la lepra es más lenta que la de la tuberculosis. La onda epidémica de lepra que ha existido en Noruega durante los últimos mil años parece estar ahora próxima a su fin: sólo ha habido tres nuevos casos entre los años de 1925 y 1931. La enfermedad ha persistido en Islandia durante los últimos 600 ó 700 años. El número de leprosos en la isla fluctuaba de un siglo a otro; en 1932 había sido reducido a 25 (Rogers y Muir, 1946). La distribución de la lepra por el mundo se indica en la figura 83.

Danielssen reconoció las células leprosas en 1840 y las describió en la monografía que publicó con Boeck en 1847. Desgraciadamente, aquel autor concluyó que la lepra era una enfermedad metabólica hereditaria y no hizo nuevas investigaciones. Hansen, hijo político de Danielssen, estimulado por los estudios de Pasteur sobre las bacterias, volvió a investigar las células leprosas y las encontró llenas de pequeños cuerpos en forma de bastón. Su comunicación a la Sociedad Médica Noruega de Cristianía, en 1874, fué recibida con el mayor escepticismo. Sin embargo, encontró un atento lector en Neisser, quien visitó su laboratorio en 1879, vió sus preparaciones y se llevó materiales a Breslau para nuevos estudios. Neisser hizo cortes de tejidos, tiñó los organismos y en dos meses logró reunir los datos para un excelente artículo que fué recibido con aclamación cuando apareció en 1879. En 1880, Hansen, al comprobar que sus estudios de diez años eran ignorados, publicó un resumen de sus observaciones simultáneamente en noruego, inglés y alemán. El mundo científico reconoció a Hansen como descubridor de la causa de la lepra y aun hoy el organismo es conocido como bacilo de Hansen.

Con la evolución de técnicas especiales de tinción para las bacterias ácidorresistentes descritas por Ehrlich y aplicadas al bacilo de la tuberculosis por Ziehl y Neelsen, fué fácil demostrar la ácidorresistencia de los organismos de la lepra y su semejanza morfológica con el bacilo de la tuberculosis.

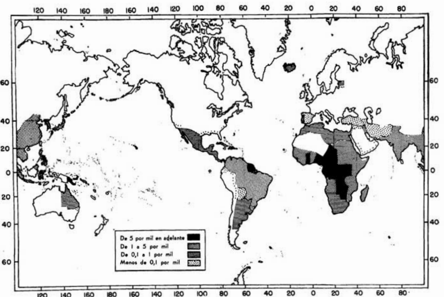


FIG. 83. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LA LEPRA.
(Según Rogers y Muir, *Leprosy*, John Wright & Sons Ltd., Bristol, Inglaterra.)

El hombre es el único huésped conocido para *Myco. leprae*. La mucosa nasal se infecta al principio de la enfermedad; casi siempre la diseminación de los organismos tiene lugar desde este foco. Las lesiones lepromatosas de la piel contienen enorme cantidad de bacilos y son infecciosas.

Morfología y tinción. Cuando se tiñen por el método de Ziehl-Neelsen, los bacilos de la lepra se encuentran predominantemente dentro de mononucleares modificados o elementos epitelioides llamados células leprosas. Dentro de ellas se encuentra gran número de bacilos en una disposición que recuerda los paquetes de cigarros. Cada bacilo varía en longitud desde 1 a 7 μ y en anchura desde 0,2 a 1,4 μ. Los bastoncillos suelen ser rectos o ligeramente curvos; cuando se colorean pueden aparecer teñidos uniformemente de rojo o mostrar gránulos y perlas algo mayores que el diámetro medio de la célula bacteriana.

Myco. leprae es ácidorresistente, grampositivo, no esporulado e inmóvil.

Cultivo. Diversos organismos ácidorresistentes han sido aislados de las lesiones lepromatosas por varios investigadores, pero, desgraciadamente, se ignora cuál es el verdadero bacilo de la lepra. No hay diferencia bastante en la morfología entre *Myco. leprae* y los demás organismos ácidorresistentes para establecer un diagnóstico. Los animales de laboratorio no son susceptibles a la enfermedad y hasta hoy no se dispone de voluntarios humanos para valorar las diferentes cepas. Los métodos inmunológicos son de poco valor a causa de las reacciones cruzadas entre bacilos de la lepra, bacilos tuberculosos y otros organismos ácidorresistentes.

McKinley y Soule (1934) han resumido las publicaciones de 34 investigadores y han incluído los resultados de sus propias y extensas investigaciones. Los cientos de microorganismos que han sido aislados se incluyen dentro de los grupos siguientes. 1) difteroides, ácidorresistentes o no; 2) miembros del género *Actinomyces*, ácidorresistentes o no, y 3) bacilos ácidorresistentes. Los bacilos ácidorresistentes fueron subdivididos en: *a*) cepas cromógenas, y *b*) no cromógenas.

Clegg (1909) cultivó organismos ácidorresistentes en simbiosis con *Endamoeba coli* y bacterias. McKinley y Soule (1931-32) emplearon los medios usados para el aislamiento de los bacilos tuberculosos, pero incubaron los cultivos en una atmósfera que contenía una mezcla de 40 por ciento de oxígeno y 10 por ciento de CO_2. McKinley y Verder (1933) usaron embrión de pollo desmenuzado en solución de Tyrode; Badger y colaboradores (1940) aislaron cepas en un medio de huevo y almidón, y Loving (1943) utilizó un medio enriquecido con tiamina.

No es raro aislar más de un tipo de organismo ácidorresistente del mismo paciente (Badger y col., 1940). Si el verdadero bacilo de la lepra ha sido cultivado, probablemente es una de las cepas que resultó más difícil de aislar y que creció muy lentamente, formando colonias pequeñas. Badger y sus colaboradores aislaron cepas de colonia rugosa y lisa. La mayor parte de los investigadores creen que el verdadero bacilo resultará no cromógeno. Ninguna de las cepas ácidorresistentes aisladas de los leprosos fermenta los carbohidratos corrientes.

Metabolitos bacterianos. Anderson y sus colaboradores (1932) aislaron cierto número de compuestos orgánicos de la cepa cromógena conocida como Cepa Nº 370 del Laboratorio de Higiene, que no se ha comprobado sea el verdadero bacilo de la lepra.

Los análisis químicos menos exactos de Dharmendra (1942-43) probablemente tienen mejor significación, porque las determinaciones se hicieron con bacilos obtenidos directamente de los nódulos leprosos extirpados de los pacientes. Un gramo de tejido lepromatoso produjo 4 mg de bacilos. El análisis de estos bacilos reveló la presencia de proteínas, polisacáridos, glicéridos, fosfátidos y cera. La proteína era

antigénica y dió reacciones cutáneas del tipo de la tuberculina a las 24-48 horas en pacientes leprosos. Se obtuvieron cutirreacciones definidas con 0,0001 mg de la fracción proteínica.

Prueba de la lepromina. La creó Mitsuda en 1936 con la esperanza de que fuera tan específica para la lepra, como la reacción de la tuberculina lo es para la tuberculosis. El material se prepara de nódulos leprosos que contienen muchos bacilos de la lepra. Los nódulos se extirpan generalmente de los lóbulos de las orejas y se pesan. Se suspenden en solución salina fisiológica, se hierven durante una hora y se trituran en un mortero hasta consistencia pastosa. Se añade solución salina hasta obtener una dilución final de 20 c.c. por gramo de tejido y otra vez se tritura la preparación en el mortero. Las partículas sólidas se dejan sedimentar; el líquido que sobrenada, opalescente, se separa y se filtra con gasa. El filtrado se esteriliza en el autoclave a 120° C. durante 15 minutos, para asegurar la esterilidad, y se le añade 0,5 por ciento de fenol.

El filtrado estéril, o *lepromina,* contiene numerosos bacilos de la lepra. Cuando se guarda en frasco de color en un lugar frío, la lepromina conserva su actividad por mucho tiempo.

La prueba se efectúa inyectando intracutáneamente 0,1 c.c. de lepromina. No se dispone de material para inyección testigo. Se observan dos tipos de reacción: la *reacción inmediata,* semejante a la de la tuberculina, que aparece después de 24 a 48 horas; la *reacción tardía* que empieza entre el séptimo y el décimo día en forma de una pequeña pápula y aumenta gradualmente de tamaño hasta que a los 20 ó 30 días llega a ser un nódulo de 1 cm de diámetro. Frecuentemente el centro del nódulo se necrosa y se desprende una escara; queda una pequeña úlcera que cura en unas semanas. Mitsuda observó ambas reacciones, inmediata y tardía, en casos curados de lepra tuberculoide y nerviosa, pero se obtuvieron reacciones negativas en casos progresivos de tipo lepromatoso. Este autor observó también reacciones positivas en individuos sanos que no habían tenido contacto con leprosos. En principio, interpretó la reacción positiva como indicación de resistencia a la lepra: tanto los individuos normales como los casos curados gozarían de buena resistencia tisular; en contraste pensó que los pacientes de tipo lepromatoso tienen poca resistencia y, por lo tanto, en ellos es negativa la reacción a la lepromina. Pronto se comprendió que la prueba de la lepromina era una reacción de tipo *alérgico,* análoga a la de la tuberculina. Wade (1941) provocó sensibilidad en perros normales con la lepromina y comprobó que en la lepromina los bacilos íntegros eran antigénicos.

Aunque la prueba de la lepromina parecía análoga a la de la tuberculina, había diferencias netas que confundieron a los especialistas, a saber: 1) las reacciones negativas, frecuentes en pacientes con lepra aguda; 2) el largo retraso en la aparición de la reacción tardía, y 3) las reacciones positivas en individuos sanos que nunca habían estado expuestos a la lepra.

Pardo-Castello y Tiant (1943) demostraron que la reacción tardía estaba causada por la presencia de bacilos intactos en la lepromina. Si se seperaban los bacilos por filtración sólo se podía obtener la reacción inmediata. De manera similar, si se desintegraban los bacilos en sus constituyentes solubles, por vibraciones supersónicas (Kitano e Inoue, 1941) o por tratamiento químico (Dharmendra, 1942), se intensificaba la reacción inmediata de tipo tuberculínico y se suprimía la reacción tardía.

La reacción negativa en la enfermedad aguda de tipo lepromatoso se puede explicar suponiendo que el paciente se halla en *período prealérgico,* análogo al período prealérgico de la tuberculosis, durante el cual los bacilos se multiplican en los mononucleares antes que la reacción a la tuberculina llegue a ser positiva.

El significado de las reacciones positivas a la lepromina en individuos sanos que no han estado expuestos a la lepra se aclaró cuando se descubrió que los individuos positivos a la tuberculina reaccionaban también a la lepromina. Fernández (1939) encontró que las personas que reaccionaban a la tuberculina y las que reaccionaban a la lepromina concordaban en el 97 por ciento de los casos, en pruebas hechas en individuos aparentemente libres de lepra y procedentes de comarcas donde no había esta enfermedad. En otro estudio, 123 niños con reacciones negativas a la tuberculina y a la lepromina fueron inoculados con vacuna antituberculosa BCG. Un mes después, la reacción de la tuberculina se encontró positiva en el 99,18 por ciento de los niños y la de la lepromina en el 91,86 por ciento. De hecho, se ha dicho que la vacunación por BCG quizá ofrezca cierta protección contra la infección leprosa.

Algunos investigadores sudamericanos han apuntado que el sarcoide de Boeck o sarcoidosis podría ser una forma leve modificada de lepra tuberculoide. No obstante, en North Carolina, donde la lepra es desconocida, la prueba de la lepromina en pacientes con sarcoide que nunca habían salido del Estado fué negativa, mientras que fué positiva en tuberculosos oriundos de allí (Harrell y Horne, 1945; Weeks y Smith, 1945).

Estructura antigénica. Badger y sus colaboradores (1940) estudiaron las propiedades antigénicas de cuatro cepas de organismos ácidorresistentes aislados de casos humanos de lepra. Tres fueron aislados de leprosos en Carville, La., y una de un leproso en Colombia, Sudamérica, por el Prof. Lleras Acosta. Cada una parecía poseer un aglutinógeno específico y otro común. Por absorción de aglutininas, dos de las cepas de lepra de Carville fueron diferenciadas de las cepas sudamericanas; las otras parecían ser idénticas.

Estas cuatro cepas de bacilos de la lepra, una cepa de tipo humano de *Myco. tuberculosis* y una cepa de *Myco. phlei*, fueron usadas como antígenos en reacciones de fijación del complemento con sueros de pacientes leprosos. Con todos los antígenos se obtuvo aproximadamente el mismo porcentaje de reacciones positivas.

Las tuberculinas preparadas de cultivos de *Myco. phlei* dieron cutirreacciones positivas en pacientes con lepra y se obtuvo aproximadamente el mismo porcentaje de reacciones positivas de D.P.P.

Se observó una relación interesante. Los casos más activos de lepra dieron el porcentaje más alto de reacciones de fijación del complemento positivas; los casos menos activos, el porcentaje más alto de reacciones cutáneas positivas.

Los casos activos de lepra dieron un alto porcentaje de reacciones positivas de Wassermann y de Kahn, pero Neurath y col. (1947), quienes estudiaron estas reacciones, demostraron que pertenecían al grupo biológico de las positivas falsas.

Enfermedad experimental en animales de laboratorio. El estudio de la lepra ha sido difícil por la falta de animal susceptible a la infección experimental. La inoculación de nódulos lepromatosos, llenos de bacilos, a los animales de laboratorio no causó mayores reacciones que las obtenidas por inoculación de *Myco. phlei*.

La comunicación preliminar de Adler, según la cual el roedor de Siria llamado en inglés *hamster* esplenectomizado se hacía susceptible a la infección con bacilos leprosos, no ha sido confirmada. Tampoco la extirpación del bazo vuelve los monos sensibles a la enfermedad (Dharmendra y Mukherji, 1944).

Aun el hombre es muy resistente a la infección experimental. Danielssen y Boeck (1847) inocularon cierto número de estudiantes de medicina y enfermeras, pero obtuvieron resultados negativos. McKinley y Soule (1934) indican que de 145 intentos registrados para infectar al hombre, sólo uno fué seguido de éxito; se trataba de un criminal hawaiano a quien Arning inoculó en 1886. Los resultados de este

experimento han sido puestos en duda debido a que la víctima había estado expuesta a la lepra antes de ser inoculada. En contraposición, hay algunos experimentos accidentales en los cuales enfermeras y médicos llegaron a infectarse durante operaciones en pacientes leprosos (Porritt y Olsen, 1947). Lagoudaky (1937) se inoculó deliberadamente con sangre de un paciente leproso y presentó lesiones cutáneas menos de dos meses después de la primera inyección. El experimento más convincente ocurrió durante la segunda Guerra Mundial. Dos marinos americanos fueron tatuados en junio de 1943 en Melbourne, Australia, y a principios de 1946 apareció en ellos la lepra, que empezó en las áreas tatuadas (Porritt y Olsen, 1947).

Tipos clínicos de infección en el hombre. La clasificación clínica de la lepra * de Pardo-Castello y Tiant (1943) se indica en la tabla siguiente. Aunque más complicada que la clasificación adoptada en 1938 por el Congreso Internacional sobre Lepra, tiene la ventaja de establecer correlación entre los resultados de la prueba de la lepromina y las manifestaciones clínicas, los hallazgos anatomopatológicos y el pronóstico. Este último es grave en la lepra lepromatosa, en la cual los bacilos se encuentran en abundancia en las lesiones y la reacción a la lepromina es negativa. Es bueno en los tipos miliar y sarcoide, en los cuales los bacilos son escasos o no se encuentran y la reacción a la lepromina es positiva.

RELACIÓN ENTRE LA ANATOMÍA PATOLÓGICA, LA INMUNOLOGÍA Y LA BACTERIOLOGÍA DE LA LEPRA

	A. patológica		Inmunología Reacción a la lepromina	Bacteriología
Lepra cutánea	Lepromatosa		Negativa	Bacilos numerosos
	Tuberculoide	Miliar	Positiva	Bacilos escasos
		Sarcoide	Positiva	Bacilos escasos
		Lazarina **	Positiva	Bacilos abundantes en las zonas necróticas; escasos en los tejidos
	Inespecífica	Eritematosa	Pos. o Neg. 50%	Pocos bacilos
		Pigmentada	Pos. o Neg. 50%	Pocos bacilos
		Acrómica	Pos. o Neg. 50%	Pocos bacilos
Lepra nerviosa	Lepromatosa		Negativa	Bacilos numerosos
	Tuberculoide	Miliar	Positiva	Bacilos escasos
		Colicuativa	Positiva	Bacilos escasos
	Inespecífica		Pos. o Neg. 50%	Pocos bacilos
Lepra de otros órganos y tejidos	Lepromatosa		Negativa	Bacilos numerosos
	Tuberculoide	Miliar	Positiva	Bacilos escasos
		Sarcoide	Positiva	Bacilos escasos
	Inespecífica	?	?	?

(Según Pardo-Castello, V., y Tiant, F. R., *J.A.M.A.*, 1943, 121:1264.)

* Esta clasificación de Pardo-Castello y Tiant ha quedado invalidada por clasificaciones posteriores. Los autores brasileños fueron los iniciadores de la que se llamó clasificación sudamericana, y posteriormente fué conocida como clasificación panamericana en una conferencia reunida en Río de Janeiro (1946). Con los antecedentes de esta clasificación, en el V Congreso Internacional de la Lepra, reunido en La Habana, en 1948, se aceptó la clasificación siguiente:

Se admiten los dos tipos polares fundamentales, el *lepromatoso* maligno y el *tuberculoide* o benigno; además, hay un "grupo" *indeterminado* de formas no características, en el cual todavía no es posible diferenciar en período precoz los diferentes tipos que lo integran. El comportamiento de las reacciones de fijación del complemento y la reacción a la lepromina suele señalar la evolución hacia el tipo lepromatoso o hacia el tuberculoide; es decir, los enfermos incluidos en el grupo que dan reacciones de fijación del complemento positivas y reacción a la lepromina negativa evolucionarán probablemente hacia el tipo lepromatoso, mientras que en caso inverso lo harán hacia el tipo tuberculoide. Las características de los tipos lepromatoso y tuberculoide se indican en el texto. (N. del T.)

** La lepra lazarina, conocida en México como "lepra manchada de Lucio", no se puede incluir entre las formas tuberculoides. Fué descrita por Lucio, médico mexicano, en 1851; según este autor, se caracteriza por "manchas rojas y dolorosas de la piel" y por su gravedad. Efectivamente, la lepra lazarina es una forma de lepra lepromatosa difusa, con capilaritis obliterante y necrosis cutánea, de gran malignidad, alta contagiosidad y evolución más rápida que el tipo clásico de lepra lepromatosa. (N. del T.)

El tipo de lepra lazarina parece ser una excepción, ya que la prueba de la lepromina es positiva, pero los síntomas son intensos y los bacilos abundantes en los tejidos necróticos. Los bacilos son raros en los tejidos fuera de las zonas necróticas; el pronóstico es bueno. Si en el paciente lepromatoso aparece subsiguientemente hipersensibilidad, debe esperarse una reacción intensa con síntomas generales y necrosis local. Coincidiendo con la aparición de hipersensibilidad e inmunidad relativa, cabe esperar una mejoría en el pronóstico.

Los tipos inespecíficos de lepra, caracterizados por pocos bacilos en las lesiones y reacciones a la lepromina positivas o negativas, parecen representar etapas de transición de la enfermedad. Los que tienen reacción negativa suelen progresar hacia el tipo lepromatoso, mientras los que dan reacciones positivas con frecuencia mejoran y más tarde presentan el tipo de reacción de tejido tuberculoide o sarcoide (Pardo-Castello y Tiant, 1943).

En los casos leves o discutibles de lepra, en los cuales el diagnóstico es dudoso, debe emplearse la *prueba del yodo* (Rogers y Muir, 1946). La administración de 2 g de yoduro potásico en un vaso de agua suele producir con frecuencia una exacerbación aguda de los síntomas constitucionales y la aparición o la reactivación de lesiones locales. Antes de llegar a la conclusión de que el paciente no tiene lepra es necesario aumentar la dosis a 6 g. El mecanismo de la reacción es desconocido; probablemente depende de un aumento en la absorción de lepromina a nivel de las lesiones locales.

Transmisión. Según la observación clínica, la transmisión de la lepra no ofrece la menor duda. Hay muchos ejemplos de europeos que adquirieron la lepra después de un solo contacto con prostitutas de las islas del sur del Pacífico (Rogers y Muir, 1946). Debe hacerse notar, sin embargo, que el hombre, en realidad, es muy resistente al desarrollo de la lepra, aun cuando esté expuesto al contagio durante años. El Padre Damien, y posiblemente uno o dos más, son los únicos casos conocidos de médicos, enfermeras o asistentes de leproserías que contrajeron la enfermedad (Hopkins, 1938).

Hopkins ha recogido pruebas convincentes en apoyo de su teoría de la susceptibilidad hereditaria, pero aun esta ligera predisposición a la infección puede ser compensada por condiciones sociales y económicas buenas. La lepra que sufrían varias familias noruegas que emigraron a Minnesota no ha sido transmitida a los nietos.

McCoy (1938) está convencido de que la lepra no puede ser transmitida en la zona templada donde las condiciones económicas son relativamente satisfactorias y cita el ejemplo de la ciudad de Nueva York, donde han vivido por lo menos un centenar de leprosos por años durante las últimas tres décadas sin producir un solo caso nuevo de la enfermedad. Por otra parte, la combinación de pobreza y clima húmedo y cálido permite la lenta diseminación de la lepra a lo largo de los Estados que bordean el golfo de México.

Los niños son más susceptibles que los adultos; en la infancia la proporción de atacados de los dos sexos es aproximadamente la misma. En los adultos, la lepra es mucho más frecuente entre los hombres de vida licenciosa que en las mujeres más circunspectas, con ciertas excepciones (Rogers y Muir, 1946). La lepra no es una enfermedad venérea, pero el contacto íntimo parece favorecer la transmisión.

El período de incubación es difícil de determinar. Parece que varía de un mínimo de unos pocos meses a un máximo de 30 años, con un promedio de dos a siete años. Black (1938) refiere el caso de una muchacha de 15 años en la cual descubrió bacilos de la lepra en frotis de un lóbulo de la oreja aparentemente normal

dos años antes que la paciente presentara lepra cutánea y nerviosa en antebrazos y piernas.

Las características del comienzo de las epidemias clásicas de lepra en la antigüedad solamente pueden conjeturarse debido a la pobreza de registros auténticos. Por el contrario, han sido observadas en detalle en este siglo en algunas islas del Pacífico. Así, por ejemplo, en 1912 una mujer leprosa llegó a Nauru desde las islas Gilbert. En 1920, cuatro de sus vecinos sufrían lepra y por el año de 1925, el 30 por ciento de la población indígena de Nauru presentaba signos de la enfermedad (Bray, 1930). Este aumento fenomenal, hasta una proporción anual de 300 casos por 100 000 habitantes, estaba con toda probabilidad grandemente facilitado por la pésima dieta alimenticia de los nativos (Chaudhury, 1946).

Tratamiento. Los casos infecciosos agudos de lepra deben ser aislados en las leproserías, donde pueden recibir cuidados médicos adecuados y una dieta bien equilibrada. El tratamiento específico con *aceite de chaulmugra*, o sus ésteres etílicos, ha producido una mejoría gradual en muchos pacientes de lepra (Johansen, 1928).

Las sulfonas, *promina, diasona* y *promizol*, han resultado más eficaces en el tratamiento de la lepra que en el de la tuberculosis. Primero se usó la promina y se comprobó que lograba mejorar netamente dentro de los seis meses a más del 50 por ciento de los casos agudos (Faget y Pogge, 1945). La promina, sin embargo, es moderadamente tóxica y fueron muchos los pacientes que no pudieron completar el tratamiento.

La *diasona* por vía oral, en dosis diarias de 0,33 a 1 g, durante un período de seis meses, produjo una mejoría objetiva en el 65 por ciento de los pacientes y logró hacer desaparecer los bacilos de la lepra en los frotis del 24 por ciento (Faget y col., 1946). La diasona es netamente menos tóxica que la promina.

El *promizol* parece ser la menos tóxica de las tres drogas, pero requiere dosis de 6 g por día. Los resultados preliminares permiten creer que será tan eficaz como la diasona (Faget y col., 1946).

Una investigación preliminar de la eficacia de la estreptomicina indica que es más tóxica y más difícil de administrar que el promizol (Faget y col., 1947). Sin embargo, se han obtenido excelentes resultados en el tratamiento de úlceras abiertas recubriéndolas con compresas empapadas en soluciones de estreptomicina sin purificar (Fite y col., 1947).

Prevención. Las observaciones de McCoy, que se refieren a los últimos 30 años, hacen pensar que no es necesario internar a un leproso que vive en una región templada donde la enfermedad no es endémica. En las zonas endémicas es necesario el aislamiento rígido de todos los tipos agudos lepromatosos e inespecíficos, pero la segregación de los tipos tuberculoide y neural, no infecciosos, no resulta tan importante siempre que el paciente se mantenga bajo vigilancia médica.

Los niños, en particular, son muy susceptibles a la lepra y deben apartarse del contacto con los padres infectados. Hombres y mujeres adultos deben separarse en leproserías; debe impedirse que tengan hijos. En los países tropicales donde la segregación es difícil o imposible, la esterilización de los varones por sección de los conductos deferentes ha resultado eficaz (Wilson, 1935).

ENFERMEDADES DE LOS ANIMALES INFERIORES

Hay tres enfermedades de los animales inferiores análogas a la lepra. Una de éstas es la llamada lepra murina; otra, una enfermedad gastrointestinal del ganado

bovino, conocida como enfermedad de Johne, y una tercera, que puede ser eslabón entre la lepra y la tuberculosis, afecta a los ratones del campo.

Lepra murina. Esta enfermedad, causada por *Myco. leprae murium,* fué descubierta entre las ratas, en Odessa, por Stefansky, en 1903. Desde entonces se ha encontrado en muchas partes del mundo (Rabinowitsch, 1903; Dean, 1903; Tidswell, 1910; Wherry, 1908; McCoy, 1912). La lepra murina ocurre espontáneamente entre las ratas caseras y se caracteriza por induraciones subcutáneas, inflamación de los ganglios linfáticos, emaciación y, a veces, ulceración y caída del pelo. La enfermedad es crónica y las ratas suelen vivir seis meses a un año después de infectadas. La lesión característica es una zona engrosada debajo de la piel del abdomen o flancos que semeja al tejido adiposo, pero es menos brillante y más nodular y gris que la grasa. La semejanza con la grasa, sin embargo, es tan estrecha que con frecuencia la enfermedad pasa inadvertida para aquellos que no están familiarizados con esta afección. Se encuentran bacilos ácidorresistentes, semejantes a *Myco. leprae,* en gran número, dentro de los mononucleares del tejido subcutáneo y en los ganglios linfáticos y nódulos del hígado y pulmones.

Las ratas pueden infectarse por inoculación directa de los tejidos infectados, pero la enfermedad se transmite probablemente de rata a rata por las pulgas (Wherry, 1908; McCoy, 1912).

Aunque la enfermedad no es exactamente igual a la lepra, la semejanza es suficientemente grande para hacer pensar que las ratas son una fuente potencial de lepra humana. Sin embargo, la distribución de la enfermedad en diversas partes del mundo no corresponde con la de la lepra humana y no se puede infectar a la rata con tejidos de casos humanos de lepra.

Zinsser y Carey (1912) indujeron al organismo a multiplicarse *in vitro* en plasma que contenía células esplénicas de rata. Es dudoso que *Myco. leprae murium* se haya cultivado en medios artificiales (Lowe, 1937).

Badger y sus colaboradores (1940) produjeron aglutininas en conejos por inyección de emulsiones de material lepromatoso. Las aglutininas fueron absorbidas completamente por cepas de *Myco. tuberculosis* y por cepas cultivadas de *Myco. leprae.*

Enfermedad de Johne. Este proceso, causado por *Myco. paratuberculosis,* fué descubierto por Johne y Frothingham en 1895 y transmitido a terneros normales por Bang en 1906. La enfermedad se caracteriza por pérdida de apetito, diarrea, emaciación, anemia y debilidad. El período de incubación es largo y el curso lento, pero invariablemente mortal. Las lesiones se presentan en la mucosa y en la submucosa del íleon, ciego y primera porción del colon. Son lesiones granulomatosas, proliferativas, que no se caseifican ni llegan a ulcerarse. Se encuentran enormes números de bacilos ácidorresistentes tanto dentro como fuera de las grandes células mononucleares.

Todos los intentos de cultivo del agente causal fracasaron hasta que Twort (1910) incorporó bacilos de la alfalfa o bacilos de la tuberculosis, muertos por el calor, al medio de huevo glicerinado. El caldo de carne y la peptona parecen inhibir el desarrollo del organismo (Hagan, 1938). El crecimiento es pobre en los medios ordinarios sin el efecto estimulante de microorganismos ácidorresistentes muertos, pero se puede obtener un desarrollo moderadamente bueno sobre los medios sintéticos de Long o de Seibert.

Los compuestos antihemorrágicos del tipo de la vitamina K pueden substituir a los extractos de organismos ácidorresistentes (Woolley y col., 1940).

Mycobacterium paratuberculosis es un bacilo pequeño, ácidorresistente, que mide de 1 a 2 μ de longitud y 0,5 μ de ancho. Es *inmóvil, no esporulado* y se des-

arrolla mejor en *condiciones aerobias* a 37,5° C. Crece aún más lentamente que el bacilo de tipo bovino.

Antes de aislar el organismo, Bang (1906) descubrió que los animales infectados solían reaccionar positivamente a la tuberculina preparada de los bacilos tuberculosos aviarios, pero en forma negativa a la tuberculina de los microorganismos bovino o humano. La *johnina*, preparada con bacilos cultivados en medios sintéticos, se puede usar en forma intercambiable con la tuberculina preparada de bacilos tuberculosos aviarios (Hagan, 1938).

El grado de *alergia* no es tan elevado como el producido por los bacilos de la tuberculosis de los mamíferos; por esto, como se requieren dosis tan elevadas de tuberculina aviaria, en ocasiones la reacción es positiva en animales normales. Los resultados son más seguros cuando la tuberculina aviaria se inyecta intravenosamente (Hagan y Zeissig, 1929).

En los últimos períodos de la enfermedad, los animales se hacen *anérgicos* y la reacción a la tuberculina es negativa (Hagan).

La *reacción de fijación del complemento* se hace pronto positiva en la enfermedad y permanece así hasta la muerte del animal. Desgraciadamente, esta reacción no es específica; los sueros de vacas con tuberculosis bovina y aun de algunos animales normales también fijan el complemento. La estructura antigénica del bacilo de Johne está siendo investigada por Sigurdsson (1947).

Las ovejas pueden infectarse espontánea o experimentalmente, pero no hay prueba de que el hombre sea sensible al bacilo de Johne (Stableforth, 1930; Hagan y Thomson, 1931).

Tuberculosis de los ratones de campo. Wells, en 1937, describió una tuberculosis espontánea en el ratón silvestre de Inglaterra o ratón del campo *(Microtus agrestis)*.

Mycobacterium muris es algo más largo y más fino que los demás bacilos de la tuberculosis de los mamíferos. Su tamaño medio en los tejidos es de 3,6 por 0,4 μ y en los cultivos de 2,5 por 0,4 μ (Brooke, 1941). En los tejidos se encuentran formas en gancho y en S.

El organismo se desarrolla muy lentamente en los diversos medios de huevo, pero parece ser inhibido por la glicerina. El crecimiento es aún más lento que el del bacilo de la tuberculosis de tipo bovino.

El bacilo murino es semejante a *Myco. leprae* en la producción de lesiones subcutáneas que contienen enormes cantidades de bacilos, pero en otros respectos parece estar más estrechamente relacionado con *Myco. tuberculosis.*

Por absorción de aglutininas se comprueba que las cepas de bacilos del ratón de campo constituyen un grupo homogéneo. También dan prueba de absorción recíproca con los tipos humanos y bovino de *Myco. tuberculosis.* Las tuberculinas preparadas de este bacilo murino dan reacciones positivas en cobayos infectados con las tres cepas de bacilos tuberculosos de mamíferos.

El ratón de campo es aún más sensible al bacilo tuberculoso bovino que a *Myco. muris*, pero muy resistente a las cepas humana y aviaria. Los ratones del campo manifiestan una diferencia más neta entre las cepas humana y bovina que los conejos (Griffith, 1941).

BIBLIOGRAFIA

Anderson, R. J., y col. *J. Biol. Chem.*, 1932, 94:653: 1932, 97:617: 1936, 113:637; 1936, 114:431: 1937, 121:669.
—— *Ztschr. f. Physiol. Chem.*, 1933, 220:1.
Arninc. *Verhandl. d. Versamml. deutsch. Naturf. u. Aerzte*, 1886.

BADGER, L. F., PATRICK, D. W., FITE, G. L., and WOLFE, D. *National Institute of Health Bull. No. 173*, 1940.
BANG, B. *Berl. tierärztl. Wchnschr.*, 1906, 759.
BANG, O. *Centralbl. f. Bakteriol.*, 1 Abt., 1909, 51:450.
BLACK, S. H. El capítulo sobre "The Pathology of Leprosy" en *The Mycobacterial Diseases*, The Science Press, Lancaster, Pa., 1938.
BRAY, G. W. *Proc. Roy. Soc. Med.* (Trop. Med.) 1930, 23:1370.
BROOKE, W. S. *Am. Rev. Tuberc.*, 1941, 43:806.
CHAUDHURY, A. K. R. *Indian Med. J.*, 1946, 40:211.
CLEGG, T. *Philippine J. Sc.*, 1909, 4:403.
DANIELSSEN, D. C., and BOECK, W. *Om Spedalskhed Christiana*, 1847.
DEAN, G. *Centralbl. f. Bakteriol.*, 1903, 34:222.
DHARMENDRA. *Indian J. Med. Res.*, 1942, 30:1.
——— and LOWE, J. *Indian J. Med. Res.*, 1942, 30:9, 17.
DHARMENDRA. *Indian J. Med. Res.*, 1943, 31:125, 129.
——— and MUKHERJI, N. *Indian J. Med. Res.*, 1944, 32:197.
FAGET, G. H., and POGGE, R. C. *Pub. Health Rep.*, 1945, 60:1165.
FAGET, G. H., POGGE, R. C., and JOHANSEN, F. A. *Pub. Health Rep.*, 1946, 61:957.
FAGET, G. H., POGGE, R. C., JOHANSEN, F. A., FITE, G. L., PREJEAN, B. M., GEMAR, F. *Internat. J. Leprosy*, 1946, 14:30.
FAGET, G. H., and ERICKSON, P. T. *Internat J. Leprosy*, 1947, 15:146.
FERNÁNDEZ, JOSÉ M. M. *Rev. argent. dermatosif.*, 1939, 23:425.
——— *Rev. argent. dermatosif.*, 1942, 26:556.
——— *Rev. argent.-norteam. cien. med.*, 1943, 1:592.
FITE, G. L., ERICKSON, P. T., GEMAR, F., and JOHANSEN, F. A. *Internat. J. Leprosy*, 1947, 15:154.
GRIFFITH, A. S. *J. Hyg.*, 1941, 41:250.
HAGEN, W. A. El capítulo sobre "Johne's Disease or Paratuberculosis of Cattle With a Note on the Disease in Sheep" en *The Mycobacterial Diseases*, The Science Press, Lancaster, Pa., 1938.
——— *Symposium Series*, Am. Ass. Adv. Sci., 1938, 1:69.
——— *Cornell Vet.*, 1938, 28:34.
——— and THOMSON, H. M. *Tr. Nat. Tuberc. Ass.*, 1931.
——— and ZEISSIG. *J. Am. Vet. M. Ass.*, 1929, 74:985.
HANSEN, G. A. *Norsk. Mag. f. Lægevidensk.*, 3R., 1874, 4:1.
——— Virchow's Arch., 1880, 79:32. Bibliografía tomada del artículo de E. Muir en *A System of Bacteriology in Relation to Medicine*, London, 1930, 5:345-382.
HARRELL, G. T., and HORNE, S. F. *Am. J. Trop. Med.*, 1945, 25:523.
HOPKINS, R. Chapter on "Heredity in Leprosy in *The Mycobacterial Diseases*, The Science Press, Lancaster, Pa., 1938.
JOHANSEN, F. A. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1928, 42:3005.
JOHNE and FROTHINGHAM. *Deutsche Ztschr. f. Thiermed.*, 1895, 21:438.
KITANO, H., and INOUE, T. *Internat. J. Leprosy*, 1941, 9:29.
LAGOUDAKY, S. *J. Trop. Med. & Hyg.*, 1936, 39:81; *ibid.*, 1937, 40:77.
LOVING, W. L. *Am. J. Trop. Med.*, 1943, 23:593.
LOWE, J. *Internat. J. Leprosy*, 1937, 5:463.
MCCOY, G. W. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1912, 23:981.
——— *Arch. Dermat. & Syph.*, 1938, 37:169.
MCKINLEY, E. B., and SOULE, M. H. *J.A.M.A.*, 1932, 98:361.
——— *Am. J. Trop. M.*, 1932, 12:1, 141.
——— *Medicine*, 1934, 13:377.
——— *Internat. J. Leprosy*, 1938, 6:33.
MCKINLEY, E. B., and VERDER, E. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1933, 30:659.
MCKINLEY, E. B., and DE LEON, W. *Internat. J. Leprosy*, 1937, 5:259.
MITSUDA, K. *Internat. J. Leprosy*, 1936. 4:491.
NEISSER, A. *Breslauer ärztl. Ztschr.*, 1879, 20.
NEURATH, H., VOLKIN, E., CRAIG, H. W., and ERICKSON, J. O. *Am. J. Syph. Gon. & Ven. Dis.*, 1947, 31:436.
PARDO-CASTELLO, V., and TIANT, F. R. *J.A.M.A.*, 1943, 121:1264.
PORRITT, R. J., and OLSEN, R. E. *Am. J. Path.*, 1947, 23:805.
RABINOWITSCH, L. *Centralbl. f. Bakteriol.*, 1903, 33:577.
ROGERS, L., and MUIR, E. *Leprosy*, John Wright & Sons Ltd., Bristol, England.
SIGURDSSON, B. *J. Immunol.*, 1947, 57:11.
STABLEFORTH, A. W. *A System of Bacteriology in Relation to Medicine*, London, 1930, 5:333.
TIDSWELL. Citado por Brinkerhoff en *The Rat and its Relation to Public Health*, U. S. Treas. Dept., Washington, 1910.
TWORT, F. W. *Proc. Roy. Soc. London*, Ser. B., 1910-11, 83:158.
WADE, H. W. *Internat. J. Leprosy*, 1941, 9:39.
WEEKS, K. D., and SMITH, D. T. *Am. J. Trop. Med.*, 1945, 25:519.
WELLS, A. G., and OXON, D. M. *Lancet*, 1937, 1:1221.

WELLS, A. G. *Brit. J. Exper. Path.*, 1938, 19:324.
WHERRY, W. B. *J. Infect. Dis.*, 1908, 5:507; 1930, 46:263.
——— *J.A.M.A.*, 1908, June 6.
——— and ERWIN, D. M. *J. Infect. Dis.*, 1918, 22:194.
WILSON, R. M. *Internat. J. Leprosy*, 1935, 3:201.
WOOLLEY, D., and MCCARTER, J. R. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1940, 45:360.
ZINSSER, H., and CAREY, E. G. *J.A.M.A.*, 1912, 58:692.

CAPITULO XXIX

MALLEOMYCES MALLEI Y MUERMO MALLEOMYCES PSEUDOMALLEI Y MELIOIDOSIS (ENFERMEDAD DE WHITMORE)

Familia: *Parvobacteriaceae* Rahn. Grupo: *Pasteurelleae* Castellani y Chalmers. Género: *Malleomyces* Pribram. Especie: *Malleomyces mallei* (Zopf) Pribram

MALLEOMYCES MALLEI Y MUERMO

El muermo es una enfermedad infecciosa de los caballos que en ocasiones se transmite a otros animales domésticos y al hombre. El microorganismo causante de la enfermedad, aunque observado y descrito anteriormente por varios autores, fué obtenido en cultivo puro y descrito con precisión por Löffler y Schütz en 1882.

Morfología y tinción. El bacilo del muermo, *Malleomyces mallei*, es un bacilo pequeño, con extremos redondeados, que tiene 3 a 4 μ de longitud y 0,5 a 0,75 μ de grosor. Hay variaciones de tamaño, que son características, entre los diferentes organismos de un mismo cultivo puro; los bacilos, por lo general, son rectos, pero pueden ser ligeramente curvos. El bacilo es *inmóvil* y no flagelado; no forma esporas. El agrupamiento de los bacilos en los frotis no es característico. De ordinario aparecen como bacilos aislados, dispuestos paralelamente sin regularidad o en cadenas de dos o más (fig. 84). En los cultivos viejos aparecen formas de involución cortas, vacuoladas y casi cocoides. Las formas vacuoladas han sido estudiadas en microfotografías electrónicas (Miller y col., 1948a).

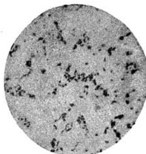


FIG. 84. BACILO DEL MUERMO.
De un cultivo de patata. (Según Zettnow.)

El bacilo del muermo se tiñe fácilmente con los colorantes usuales de anilina. Cuando se tiñe con azul de metileno presenta irregularidades manifiestas, con porciones poco teñidas o sin teñir. Esta característica, de cierto valor diagnóstico, representa, probablemente, una irregularidad inherente a la composición protoplásmica normal del bacilo semejante a la de *C. diphtheriae*. El bacilo es gramnegativo y no ácidorresistente.

Características de cultivo. El *M. mallei* es *aerobio;* la temperatura óptima es de 37,5° C.; no crece a temperaturas inferiores a 22° C., o superiores a 43° C. El bacilo del muermo se cultiva con facilidad en todos los medios comunes de caldo de carne, y, al parecer, no se modifica por variaciones moderadas en la reacción por

cuanto se desarrolla igualmente bien sobre substratos neutros, ligeramente ácidos o ligeramente alcalinos. Los organismos crecen mejor cuando se añaden al medio glicerina o pequeñas cantidades de glucosa.

En *agar*, las colonias no tienen caracteres distintivos. Después de 24 horas a 37,5° C., aparecen manchas blancoamarillentas, al principio transparentes, que más tarde se hacen opacas. Las colonias son redondas con borde liso; son finamente granulares cuando se examinan con mayores aumentos. Conforme los cultivos envejecen tienden a hacerse más amarillos.

En *gelatina*, a la temperatura de la habitación, el desarrollo es lento, blancogrisáceo y nunca abundante. No licuan la gelatina.

En *caldo*, el organismo produce al principio un enturbiamiento difuso, pero después se forma un sedimento mucoso, consistente y espeso. Al mismo tiempo, la superficie se cubre de una película mucosa y todo el cultivo adquiere gradualmente color moreno obscuro.

No fermenta ninguno de los carbohidratos.

En *leche*, la coagulación se produce lentamente; la leche tornasolada se acidifica.

El crecimiento en *patata* se desarrolla en forma patognomónica. Supuesto que no sea demasiado ácida, el desarrollo es abundante y cubre la superficie, en 48 horas, con una capa gelatinoide, transparente, amarillenta, que gradualmente se hace más obscura, hasta tomar color pardo rojo intenso. Un desarrollo característico similar ocurre con *P. aeruginosa;* sin embargo, pueden distinguirse por otros medios.

Resistencia. La desecación mata a *M. mallei* en breve tiempo, pero los organismos sobreviven durante 70 días en el agua de un depósito. En tubos sellados y colocados en un lugar obscuro y frío los bacilos pueden permanecer con vida durante meses o años. El microorganismo muere por la luz solar en 24 horas, por una temperatura de 60° C. en dos horas y por 75° C. en una hora. El fenol al 1 por ciento lo destruye en 30 minutos, y el bicloruro de mercurio al 0,1 por ciento causa su muerte en 15 minutos. Las *sulfonamidas*, especialmente la sulfadiacina, inhiben el desarrollo del organismo, lo mismo en los animales de experimentación que en los pacientes (Howe y Miller, 1947).

Metabolitos bacterianos. *M. mallei* no produce exotoxina, pero se ha extraído de los cuerpos de los bacilos una endotoxina débil. En dosis adecuadas, esta endotoxina sólo es ligeramente tóxica para los animales normales, pero puede causar la muerte en 12 a 24 horas inyectada a animales infectados, indicando así que este material contiene también una substancia que da reacción en los animales hipersensibles. Este material resiste una temperatura de 120° C. y se puede conservar durante largo tiempo sin pérdida apreciable en su potencia. Este material reactivo, la *maleína*, es de naturaleza proteínica y análogo en su acción a la tuberculina en la tuberculosis.

En el laboratorio Washington Bureau of Animal Industry, la maleína se prepara cultivando los bacilos en caldo glicerinado durante cinco meses a 37,5° C. Después se hierven por una hora y se dejan en lugar frío durante una semana. Se decanta el líquido que sobrenada y se filtra por arcilla mediante una trompa de vacío. El filtrado se evapora en baño de María hasta un tercio de volumen original; se restablece el volumen inicial con solución de fenol al 1 por ciento que contenga alrededor de 10 por ciento de glicerina.

Estructura antigénica. La inyección de microorganismos íntegros inicia la producción de anticuerpos y provoca un estado de *alergia* para la maleína en los tejidos del animal. El suero de caballo normal puede aglutinar los bacilos a diluciones tan altas como 1:200 ó 1:400. Los sueros humanos normales pueden aglutinar a *M. mallei* en diluciones tan altas como 1:320, pero tales sueros no fijan el complemento (Howe

y Miller, 1947). La reacción de fijación del complemento, aunque menos sensible, es más específica para determinar la presencia de la infección. Howe y Miller consideran que una reacción de fijación del complemento positiva en un suero diluído al 1:20 permite diagnosticar la enfermedad. McNeil y Olmstead, del Departamento de Salubridad de la ciudad de Nueva York, preparan el antígeno para la fijación del complemento por cultivo de *M. mallei* en agar-patata con 1,6 por ciento de glicerina. De este cultivo original se hacen trasplantes a un agar-peptona de ternera, sin carne. Después de incubación de 24 horas los organismos son recogidos con agua destilada y muertos por calentamiento a 80° C. durante cuatro horas. Después de pasado por un filtro Berkefeld se calienta de nuevo el antígeno a 80° C. durante una hora para asegurar su esterilidad.

Enfermedad en los animales. El muermo en caballos, mulos o asnos puede ser de naturaleza aguda o crónica. La forma aguda tiene comienzo violento con fiebre y postración. Después de dos o tres días se inicia una descarga nasal, que al principio es serosa, pero más tarde se hace seropurulenta. La mucosa nasal llega a ulcerarse; esto se acompaña con frecuencia de aumento de tamaño de los ganglios linfáticos regionales, que tienden a la necrosis y a fistulizarse. La infección alcanza finalmente los pulmones, y la muerte se produce cuatro a seis semanas después del comienzo de la enfermedad. En la forma crónica, el comienzo es más gradual, con pocos síntomas generales. Por lo común, hay aumento de tamaño de los ganglios linfáticos en general y tendencia a ulcerarse los del cuello. El engrosamiento de los vasos linfáticos superficiales produce el síndrome clínico del muermo. Este tipo de participación linfática, sin embargo, no tiene valor diagnóstico y puede ocurrir en infecciones por hongos, como la esporotricosis o la criptococosis. La muerte ocurre después de semanas o meses en un pequeño porcentaje de animales infectados. La curación completa es rara; muchos animales siguen con úlceras crónicas en la piel o en la mucosa nasal. Tales animales constituyen los reservorios naturales de la enfermedad.

Los conejos, cobayos y roedores *hamster* son receptivos para la infección experimental. Un número tan reducido como 5 a 30 organismos de una cepa virulenta pueden producir una infección mortal en hamsters (Howe y Miller, 1947; Miller y col., 1948b). Las vacas, cerdos, ratas y aves son inmunes. En ocasiones ocurren infecciones espontáneas en gatos, perros y animales de parques zoológicos.

Prueba de Strauss. Cuando los organismos no se pueden aislar por siembra directa en agar-sangre, o en el medio de patata, más favorable, deben inocularse intraperitonealmente cobayos machos con el pus de las úlceras o con fragmentos de tejido triturado. Si hay bacilos, al cabo de dos o tres días aparece enrojecimiento e hinchazón de los testículos. Entonces se pueden hacer los cultivos con pus testicular, bazo o exudado peritoneal de los animales inoculados.

Prueba de la maleína. La prueba de la maleína para diagnóstico del muermo en caballos debe ser practicada por un cirujano veterinario calificado. La dosis, usualmente 0,25 c.c. de maleína sin diluir, se inyecta bajo la piel de la ubre o del cuello. Se producen síntomas locales y generales. La lesión local aparece en forma de inflamación pocas horas después de la inyección; rápidamente evoluciona para convertirse en una zona indurada, difusa, caliente, que puede alcanzar un diámetro de 20 a 30 cm. La inflamación es intensamente dolorosa durante las primeras 24 horas y dura de 3 a 9 días. Los efectos generales se hacen evidentes 6 a 8 horas después de la inyección subcutánea; la temperatura en los caballos infectados llega hasta 40° ó 41° C. y hay síntomas manifiestos de intoxicación general. La temperatura suele empezar a bajar después de 10 a 16 horas y alcanza el nivel normal en 2 ó 3 días. La temperatura del caballo debe tomarse tres veces durante el día que

precede a la prueba, y cada dos horas, hasta por lo menos 18 horas, después de la inyección. Se pueden observar reacciones focales a nivel de las lesiones nodulares localizadas en otras partes del cuerpo. En los animales normales, las reacciones locales son mucho menores y pasajeras; la elevación de temperatura también es insignificante. Los caballos con bronquitis, periostitis y algunas otras enfermedades pueden dar reacciones positivas falsas o dudosas con la maleína. Por lo general, se considera prudente matar a todos los animales que dan reacciones positivas o dudosas con la prueba de la maleína.

Prueba oftálmica. En esta prueba se introduce en el saco conjuntival del caballo una tableta de maleína. En los animales infectados aparecen inflamación y enrojecimiento intenso 24 horas después de la instilación. Las reacciones generales que siguen a este tipo de prueba son mínimas.

Tipos clínicos de infección en el hombre. Como los caballos, el hombre puede presentar ambas formas del muermo, la aguda o la crónica; la primera es mucho más común en la especie humana, mientras que la mayor parte de las infecciones en los caballos son de tipo crónico.

La infección empieza, por lo general, en la piel, a nivel de un arañazo o erosión, pero puede principiar como ulceración de la mucosa al igual que en los caballos. En ocasiones ocurren infecciones de laboratorio por inhalación de gotitas que contienen los bacilos (Howe y Miller, 1947). Puede ocurrir la infección directa a través de la piel por contacto con cultivos.

Los tipos clínicos de la enfermedad varían con la puerta de entrada. La infección por vía cutánea da lugar a la aparición de un nódulo en el sitio de la infección, que se rodea de una zona de linfangitis e inflamación. Puede haber una infección papular generalizada que se hace pustulosa y semeja a las lesiones de la varicela. Esta forma de la enfermedad suele ser mortal en ocho a diez días.

La infección de las mucosas nasales puede producir un cuadro clínico con participación linfática que se parece a la enfermedad crónica que se ve en los caballos. Esta forma de la enfermedad en el hombre es mortal con mayor frecuencia que en el caballo.

Las infecciones de laboratorio por inhalación, empiezan como una neumonitis que semeja ciertas infecciones de los pulmones por virus (Howe y Miller, 1947). Conforme la enfermedad progresa aparecen lesiones necróticas focales múltiples (Robins, 1906). En la necropsia, en pacientes que mueren de muermo, se encuentran lesiones granulomatosas (fig. 85). Los nódulos pueden estar distribuídos por todo el cuerpo; con frecuencia se obtiene *M. mallei* en cultivo puro del centro de tales lesiones.

Diagnóstico. Los hemocultivos suelen ser negativos, excepto en los períodos terminales de la enfermedad. Hay neutropenia persistente con linfocitosis relativa. Durante la primera semana de la enfermedad se observan títulos de aglutininas de 1:40 ó 1:80, que rápidamente se elevan hasta alcanzar niveles de significación diagnóstica: de 1:640 a 1:1 280 durante la segunda semana. La reacción de *fijación del complemento* es negativa durante la primera semana y a veces durante la segunda, pero suele hacerse positiva durante la tercera. Tanto las aglutininas como los anticuerpos fijadores del complemento pueden persistir por un año en el suero de los pacientes que curan. La *cutirreacción a la maleína* se efectúa por inyección intradérmica de 0,1 c.c. de una dilución al 1:10 000 de la maleína comercial. La prueba se hace positiva en la mayoría de los pacientes durante la tercera o la cuarta semana de la enfermedad y permanece positiva durante años. La prueba positiva es semejante a la de la tuberculinorreacción y se lee después de 24 a 48 horas. Los individuos normales no presentan reacción en el sitio de la inyección o sólo sufren una zona

de enrojecimiento que palidece casi por completo a las 48 horas (Howe y Miller, 1947).

Transmisión. El muermo era antes una enfermedad relativamente común entre agricultores, mozos de cuadra, veterinarios y otros que tenían contacto directo con los caballos. En 1919, von Brunn revisó 403 casos de muermo en el hombre. Después de la introducción de la prueba de la maleína y de la matanza sistemática de todos los animales que dan reacciones positivas, la enfermedad ha llegado a ser rara en casi todo el mundo, excepto en los países balcánicos. Herold y Erickson, en 1938, publicaron un caso en el hombre y McGilvray otro en 1944. Howe y Miller (1947) han llamado la atención sobre el peligro de las infecciones de laboratorio y han publicado seis casos.

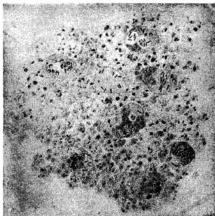


FIG. 85. BACILOS DEL MUERMO EN LOS TEJIDOS.

(De un dibujo proporcionado por el Dr. James Ewing.)

Productos biológicos. No se dispone de suero terapéutico para tratamiento de esta enfermedad. El *antígeno* usado para las reacciones de fijación del complemento se puede preparar por el método indicado en la sección de estructura antigénica. La *maleína* se halla en el comercio y está disponible para las *cutirreacciones*. Debe inyectarse por vía intradérmica 0,1 c.c. de una dilución al 1:10 000.

Tratamiento. Howe y Miller (1947) han obtenido excelentes resultados por el tratamiento intensivo y persistente con sulfadiacina.

Prevención. El restablecimiento en los caballos no va acompañado de inmunidad efectiva. Han fracasado todos los intentos para provocar en los animales inmunidad activa con vacunas; por lo tanto, cabe presumir que las vacunas no sean eficaces como agentes inmunizantes para el hombre. La matanza de los solípedos (caballo, mulo, asno) que albergan la infección constituye el mejor método de eliminar la enfermedad.

MALLEOMYCES PSEUDOMALLEI Y MELIOIDOSIS

Familia: *Parvobacteriaceae* Rahn. Grupo: *Pasteurelleae* Castellani y Chalmers. Género: *Malleomyces* Pribram. Especie: *Malleomyces pseudomallei* (Whitmore) Breed

En 1912, Whitmore y Krishnaswami describieron por primera vez, en Rangoon, una enfermedad humana semejante al muermo. Sus características principales son septicemia, piemia y formación de nódulos granulomatosos típicos en casi todas las partes del cuerpo. La infección ha ocurrido no solamente en el hombre, sino también en forma epizoótica entre cobayos y conejos en ciertos laboratorios. Como la enfermedad se observa también en las ratas silvestres, se supone que estos animales sean los reservorios naturales de la infección. Se han publicado casos de la enfermedad principalmente en los Estados Malayos, Indochina y Ceilán. En 1921, Stanton y Fletcher denominaron a la enfermedad *melioidosis* porque los antiguos griegos aplicaron el término "melis" a diversos procesos semejantes al muermo.

Cuando Whitmore estudió el organismo, aislado por él de las lesiones, reconoció que estaba relacionado con el bacilo del muermo y, por tanto, lo denominó *Bacillus pseudomallei*. Otros nombres dados a este organismo son *Bacillus whitmori, Pfeifferella whitmori* y, finalmente, en la sexta edición del *Manual of Determinative Bacteriology* de Bergey está catalogado como *Malleomyces pseudomallei.*

El microorganismo, descrito por Whitmore y Stanton y Fletcher, mide de 1 a 2 μ de longitud y 0,5 μ de ancho. En los cultivos en caldo se encuentran formas más largas y más gruesas. Es *móvil, no forma esporas* y es *gramnegativo.*

Esta bacteria es aerobia y crece bien en los medios de cultivo usuales. Las colonias, que al principio son blanquecinas y opacas, llegan a ser amarillas o morenas y rugosas. La temperatura óptima para el desarrollo es de 37° C. Se han descrito variantes mucoides y rugosas. Se dice que los cultivos tienen olor a tierra húmeda. Los organismos licuan la gelatina, pero no producen indol. Producen *ácido sin gas* en la *glucosa* y acidifican y coagulan la leche.

M. pseudomallei difiere de *M. mallei* principalmente por ser *móvil* y por su capacidad de licuar la gelatina.

Hay una estrecha relación antigénica entre *M. pseudomallei* y uno de los grupos del bacilo del muermo (Stanton). No está demostrado que el organismo guarde relación con *Pasteurella tularensis*, y la melioidosis parece ser distinta de la tularemia.

Blanc y Baltazard (1941) señalaron que la melioidosis podía ser transmitida por el mosquito *Aëdes aegypti* y por la pulga de la rata *Xenopsylla cheopis.*

Durante la segunda Guerra Mundial, Cox y Arbogast (1945) publicaron un caso de un indio americano que contrajo una infección mortal con *M. pseudomallei* mientras hacía su servicio militar en Burma. En Guam ocurrieron dos casos en soldados americanos (Mirick y col., 1946). McDowell y Varney (1947) publicaron un caso de infección crónica, que fué el primero conocido de *melioidosis* en el hemisferio occidental. Las *sulfonamidas* y la *estreptomicina* inhibieron a los organismos, pero rápidamente se desarrollaron *in vitro* cepas resistentes.

Según Cox y Arbogast (1945) la *penicilina* era ineficaz y las *sulfonamidas* eran paliativas.

BIBLIOGRAFIA

Blanc, G., and Baltazard, M. *Compt. rend. Acad. d. Sc.*, 1941, 213:541, 670.
Cox, C. D., and Arbogast, J. L. *Am. J. Clin. Path.*, 1945, 15:567.
Herold, A. A., and Erickson, C. G. *South. Med. J.*, 1938, 31:1022.
Howe, C., and Miller, W. R. *Ann. Int. Med.*, 1947, 26:93.
Löffler, F., and Schütz. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1882, 8:707.
McDowell, F., and Varney, P. L. *J.A.M.A.*, 1947, 134:361.

McGilvray, C. D. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1944, 104:255.
Miller, W. R., Pannell, L., Cravitz, L., Tanner, W. A., and Ingalls, M. S. *J. Bacteriol.*, 1948(a), 55:115.
———, Pannell, L., Cravitz, L., Tanner, W. A., and Rosebury, T. *J. Bacteriol.*, 1948(b), 55:127.
Mirick, G. S., Zimmerman, H. M., Maner, G. D., and Humphrey, A. A. *J.A.M.A.*, 1946, 130:1063.
Robins, G. D. *Studies from Royal Victoria Hosp.*, Montreal, 1906, Vol. 2, No. 1.
Stanton, A. T., and Fletcher, W. *Tr. 4th Cong. Far East. Ass. Trop. M.*, 1921, 2:196.
——— *J. Hyg.*, 1925, 23:347.
——— *Lancet*, 1925, 1:10.
Strauss, I. *Arch. de méd. expér.*, 1889, 1:460.
von Brunn, W. *Vierteljahrschr. f. Gericht. med.*, 1919, 58:134.
Whitmore, A. *J. Hyg.*, 1913, 13:1.
——— and Krishnaswami, C. S. *Indian M. Gaz.*, 1912, 47:262.
Wladimiroff. In Krauss and Levaditi, *Handbuch*, etc., 1908.

CAPITULO XXX

KLEBSIELLA PNEUMONIAE Y ORGANISMOS AFINES

Con frecuencia el bacteriólogo encuentra bacilos capsulados *gramnegativos*, inmóviles, que han perdido la facultad de licuar la gelatina. Son muy activos químicamente, pero sus reacciones *IMVIC (indol, rojo de metilo, Voger-Proskauer* y *utilización del citrato)* y sus fermentaciones de los carbohidratos son variables. En el *Manual* de Bergey, tales organismos están catalogados en el grupo *Escherichiae*, que incluye a los géneros *Klebsiella*, *Aerobacter* y *Escherichia*.

En general, aquellas cepas que varían en su capacidad de fermentar la glucosa y la lactosa y son irregulares en sus reacciones *IMVIC* son patógenas y se designan como *Klebsiella pneumoniae*.

En la práctica, con frecuencia es difícil separar los bacilos capsulados gramnegativos en estos tres géneros. En 1941, Osterman y Rettger estudiaron las reacciones bioquímicas, relaciones antigénicas y propiedades patógenas de cien bacilos gramnegativos capsulados, que habían sido clasificados originalmente como miembros de uno u otro de los tres géneros antes indicados. De ellos, cincuenta fueron identificados como *Klebsiella pneumoniae*, cuarenta y seis como *Aerobacter aerogenes* y dos como *Escherichia coli*. Hubo una cepa clasificada como intermedia y otra como aberrante (no clasificada). De los organismos clasificados finalmente como *K. pneumoniae*, 19 dieron reacciones bioquímicas características de *A. aerogenes*, tres de *E. coli*, tres de *coli-aerogenes intermedius*, 18 de organismos coliformes aberrantes y tres de organismos coliformes que no fermentaban la lactosa. Además, se observaron reacciones de aglutinación cruzadas entre las variantes S de *K. pneumoniae* y *A. aerogenes*.

Ninguna de las cepas capsuladas de *A. aerogenes* era patógena para los ratones, mientras que todas las cepas de *K. pneumoniae*, tipos A y B, lo fueron. Sin embargo, muchas de las cepas de tipo C no eran patógenas. Las cepas patógenas capsuladas fueron clasificadas automáticamente como *K. pneumoniae*, de tipos A, B, C y grupo X, si bien algunas de las aisladas dieron reacciones bioquímicas típicas de *A. aerogenes* o de los grupos de organismos coli e intermedios no productores de indol (Osterman y Rettger, 1941).

Este grupo de bacilos capsulados gramnegativos está tomando una importancia creciente en clínica. La práctica habitual de tratar todas las infecciones con sulfonamidas y penicilina ha tenido por resultado la eliminación de los cocos grampositivos de muchas infecciones y el hallazgo de bacilos gramnegativos en un porcentaje cada vez mayor de pacientes con síntomas persistentes. Así, el uso de la penicilina como aerosol en el tratamiento de bronquitis crónicas e infecciones pulmonares, elimina regularmente los cocos grampositivos del esputo y deja una gran variedad de bacilos gramnegativos. Estos organismos deberían ser enviados a centros especiales de diagnóstico para su clasificación.

Klebsiella pneumoniae es altamente patógena para el hombre. Este organismo resiste el tratamiento con sulfonamidas y penicilina, pero suele ser muy sensible a la

estreptomicina; de aquí que por consideraciones tanto prácticas como teóricas debiera estimularse el estudio de este grupo de organismos.

KLEBSIELLA PNEUMONIAE

Familia: *Enterobacteriaceae* Rahn. Grupo: *Eschericheae* Bergey, Breed y Murray. Género: *Klebsiella* Trevisan. Especie: *Klebsiella pneumoniae* (Schroeter) Trevisan

El bacilo, conocido en la mayor parte de los laboratorios clínicos como *Bacillus mucosus capsulatus* o *bacilo de Friedländer*, fué aislado en 1882 por Friedländer de esputos de pacientes con neumonía lobar. Este autor llamó a este cocobacilo corto *micrococcus* y creyó que era la causa común de neumonía lobar. Aunque este organismo en ocasiones causa epidemias de neumonía, no es la causa más común de la enfermedad. Si Friedländer hubiera sido más afortunado en su elección de material, él, más bien que Fränkel y Weichselbaum (1886), hubiera sido el descubridor de *Diplococcus pneumoniae*. Las investigaciones de los últimos autores demostraron que el organismo de Friedländer era un bacilo corto, capsulado, *gramnegativo*, muy diferente del neumococo grampositivo; estudios recientes de Perlman y Bullowa (1941) han demostrado que solamente el 1,1 por ciento de casos clínicos de neumonía lobar están causados por el bacilo.

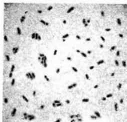


FIG. 86. KLEBSIELLA PNEUMONIAE.

(De W. W. Ford, *Textbook of Bacteriology*.)

K. pneumoniae es huésped de la nasofaringe del 1 por ciento (Hyde y Hyde, 1943) al 5 por ciento (Bloomfield, 1921) de los individuos normales. Aunque el nombre específico del microorganismo implica que vive en las vías respiratorias, puede ser aislado de cualquier parte del cuerpo. En una serie de 198 pacientes, se encontró la infección en el tubo gastrointestinal en el 31 por ciento, en el aparato genitourinario en el 25 por ciento, en el hígado y vías biliares en el 23 por ciento, en pulmones y vías respiratorias en el 12,5 por ciento, en piel y anexos en el 5 por ciento y en vagina, útero y anexos en el 3,5 por ciento de los casos (Jaffe, 1943).

K. pneumoniae produce, en ocasiones, epidemias de neumonía en ratones (Webster, 1930) y de metritis en las yeguas (Edwards, 1928). *K. paralytica* fué aislada de una enfermedad de las antas caracterizada por parálisis (Wallace y col., 1933). La infección es transmitida por una garrapata.

Se han aislado cepas virulentas de *K. pneumoniae* tipo B en el suelo, agua y leche (Edwards, 1928).

Morfología y tinción. Cuando se examina en material obtenido directamente de lesiones humanas o animales, *K. pneumoniae* aparece como un cocobacilo (0,5 a 1,5 μ por 1 a 2 μ); posee una cápsula que con frecuencia es de doble o triple tamaño que el bacilo mismo (fig. 86). Con frecuencia, los organismos se presentan a pares y los diplobacilos pueden confundirse fácilmente con los diplococos del neumococo, a menos que la tinción diferencial de Gram se haga con cuidado.

El organismo, *inmóvil* y *no esporulado*, es *gramnegativo*. Se decolora fácilmente en los frotis finos, pero puede parecer grampositivo cuando un frotis grueso de

esputo o material infectado se lava inadecuadamente con alcohol. Con frecuencia la cápsula se reconoce fácilmente en frotis teñidos por el método de Gram y se demuestra sin dificultad con las coloraciones usuales para las cápsulas. En los cultivos se encuentran bacilos de 3 a 5 μ de longitud; en los frotis hechos de colonias tipo R, aparecen formas filamentosas.

Características de cultivo. *K. pneumoniae* crece fácilmente en *todos los medios usuales de laboratorio,* produciendo, después de incubación de 24 horas, colonias blancogrisáceas de tamaño mediano, con aspecto mucoso, semilíquido característico. Si después de tocar una colonia con un asa de alambre se separa ésta con cuidado se puede ver un filamento delgado de material mucoide de varios milímetros de largo extendido desde el asa hasta la colonia. Por este solo dato se puede establecer un diagnóstico de presunción. Las colonias mucoides son mayores en medios de caldo de carne o en medio simple que contenga glucosa.

En *caldo,* los organismos se desarrollan rápidamente, produciendo un enturbiamiento homogéneo en 12 a 24 horas. Se produce una película y sigue la formación de un sedimento filamentoso profuso que se deposita en el fondo del tubo.

Este microorganismo es *aerobio,* pero también anaerobio facultativo. Se desarrolla a pH de 6 a 7,8, a temperaturas comprendidas entre 12° y 43° C. con óptimo de 35° C.

En gelatina produce un crecimiento en forma de clavo en los cultivos por picadura, pero *no licua la gelatina; los nitratos son reducidos a nitritos,* pero *no se forma indol.*

Algunas cepas producen ácido y gas con glucosa, lactosa y otros carbohidratos; algunas producen solamente gas, mientras que otras no fermentan la lactosa. Generalmente fermentan la *inosita,* pero las reacciones de *IMVIC* son tan variables que rara vez proporcionan una base firme para el diagnóstico.

Rakieten y colaboradores (1940) han aislado bacteriófagos específicos para *Klebsiella pneumoniae,* tipos A, B y C.

Resistencia. Si se protegen de la desecación, los cultivos permanecen vivos durante meses a la temperatura del laboratorio. Mueren rápidamente a temperaturas de 56° a 60° C. Las *sulfonamidas* tienen cierto efecto inhibidor sobre *K. pneumoniae,* pero la *penicilina* es ineficaz. La *estreptomicina* inhibe el desarrollo del organismo en concentraciones que varían desde 0,6 a 256 microgramos por c.c. de cultivo líquido.

Variabilidad. El tipo de variación de *K. pneumoniae* es similar al del neumococo, con una fase virulenta mucoide (M), una lisa (S) avirulenta y una fase rugosa (R). La variación ocurre con la mayor frecuencia en una o más zonas de la periferia de una colonia aislada. El proceso es continuo; pueden requerirse semanas o meses de subcultivos para establecer verdaderas variaciones (Osterman y Rettger, 1941; Humpheries, 1944).

Metabolitos bacterianos. *K. pneumoniae* produce una catalasa. El polisacárido capsular se disuelve en los líquidos de los tejidos y se puede demostrar en la orina por precipitinorreacciones (Blake, 1918).

No produce ni *exotoxinas,* ni *endotoxinas;* se pueden inyectar a los animales dosis masivas de formas S y R sin que produzcan síntomas.

Estructura antigénica. Como las reacciones bioquímicas de las diferentes cepas de este microorganismo son tan variables, se hizo poco progreso en la clasificación hasta que el análisis antigénico fué aplicado a este problema por Julianelle (1926-35) y Edwards (1928-29).

La estructura antigénica de *K. pneumoniae* es similar a la del neumococo. La especificidad de tipo depende del polisacárido capsular; la especificidad de grupo resulta de su contenido en antígenos proteínicos somáticos. Se pueden producir sueros

absolutamente específicos, pero con títulos bajos de aglutininas, inyectando conejos con organismos capsulados específicos de tipo. Por reacciones de aglutinación y precipitación Julianelle subdividió las cepas de *K. pneumoniae* en tres grupos específicos (tipos A, B y C) y un grupo no específico de cepas, al parecer no relacionadas, que designó como X. El tipo I de Edwards corresponde al tipo B de Julianelle y el tipo II al tipo A de Julianelle. Este último autor (1941) clasificó 109 cepas aisladas de pacientes con neumonía y demostró que el 64 por ciento eran de tipo A, el 14 por ciento de tipo B, el 7 por ciento de tipo C y el 15 por ciento del grupo X.

Las cepas B infectan a las yeguas y, en ocasiones, al hombre. Muchas de las cepas C han sido aisladas de casos de rinoescleroma. Los polisacáridos de *K. pneumoniae*, tipo B, son químicamente muy similares a los de los neumococos tipo II. Se obtienen reacciones de precipitación cruzada y se proporciona protección recíproca a los ratones inyectados con sueros inmunes preparados por uno u otro organismo.

Cuando se inyecta a conejos la fase S no capsulada de *K. pneumoniae*, se obtienen títulos altos de aglutininas para la mayor parte de las cepas de organismos lisos no capsulados que originalmente fueron clasificados en las fases M como tipos A, B, C o X.

Enfermedad experimental en animales de laboratorio. Los ratones, en particular, son susceptibles a la infección con *K. pneumoniae*. La inyección intraperitoneal produce peritonitis y septicemia. Los cobayos y conejos son algo más resistentes.

M. R. Smith y Wood (1947) demostraron la importancia de la fagocitosis periférica en la curación de las infecciones experimentales con *K. pneumoniae* y confirmaron así las observaciones hechas previamente con el neumococo.

Tipos clínicos de infección en el hombre. Las infecciones con *K. pneumoniae* ocasionan lesiones en cualquier parte del cuerpo. Se han observado sinusitis, faringitis, meningitis, endocarditis, septicemia, peritonitis, abscesos del hígado y salpingitis (Botsford y Kinney, 1946; Tartakoff y Grynbaum, 1946; Ghiselin y Robertson, 1947).

K. pneumoniae produce un tipo grave de neumonía que tiene mortalidad de cerca del 90 por ciento (Hyde y Hyde, 1943). Los pacientes que sobreviven a la infección pulmonar aguda desarrollan lesiones fibrosas que pueden simular las de la tuberculosis. Otros pacientes con neumonía pueden presentar, como secuela, abscesos pulmonares (Brock, 1946; Smith, 1947). *K. pneumoniae* se cultiva con frecuencia de los esputos de pacientes con bronquiectasia. Algunas veces los organismos son invasores secundarios, pero en otros casos deben ser considerados como la causa primaria del estado clínico (Herrell y Nichols, 1945).

En ocasiones se ha registrado una forma grave de enteritis en niños que puede simular la disentería bacilar (Walcher, 1946).

Durante la última parte de la segunda Guerra Mundial las infecciones por *K. pneumoniae* se observaron con una frecuencia creciente (Swartz y Rohde, 1946; Solomon, 1947).

Tratamiento. Los pacientes afectos de infecciones agudas con *K. pneumoniae* no mejoran con la penicilina. Las sulfonamidas tienen cierto valor, pero la penicilina es el antibiótico más eficaz; ha sido usado con éxito en el tratamiento de casos de meningitis y septicemias.

Las infecciones subagudas pueden responder a la combinación de sulfamídicos o estreptomicina con autovacunas.

La aplicación de la terapéutica por la estreptomicina a los casos crónicos de bronquiectasia (Herrel y Nichols, 1945) no tuvo por resultado la curación, pero los pacientes mejoraron considerablemente y quedaron en situación de operarse sin peligro mayor.

KLEBSIELLA RHINOSCLEROMATIS Y RINOESCLEROMA

El rinoescleroma es un tumor granulomatoso de crecimiento lento que empieza en las ventanas externas de la nariz o en la mucosa de ésta, de la boca, faringe o laringe. La masa tumoral tiene poca acción sobre la salud del paciente, excepto por los trastornos de origen simplemente mecánico. La enfermedad es rara en Estados Unidos, pero común en el sureste de Europa, en India y América Central (Ghosh y Panja, 1945; Reyes, 1946; Falcão, 1947). Las biopsias de las lesiones muestran la presencia de células mononucleares grandes, hinchadas, llamadas "células de Mikulicz", llenas de bacilos capsulados, gramnegativos (fig. 87).

Los bacilos crecen fácilmente en los medios usuales de laboratorio formando colonias mucoides, pequeñas, blancas o amarillentas después de 24 a 48 horas de incubación. Este microorganismo produce ácido sin gas con la glucosa y no fermenta la lactosa. Morris y. Julianelle (1934) comprobaron que el polisacárido de *K. rhinoescleromatis* es idéntico al de *K. neumoniae* de tipo C.

Las cepas cultivadas tienen escaso o nulo poder patógeno para los ratones y otros animales de laboratorio; Reyes (1946) no pudo transmitir la enfermedad a animales de laboratorio o al hombre por inoculación de pequeñas porciones de los tumores granulomatosos. Los microorganismos de las células de Mikulicz quizá puedan aislarse en el saco vitelino del embrión de pollo por el método de Anderson y col. (1945) para el aislamiento de los organismos capsulados intracelulares de las lesiones del granuloma inguinal.

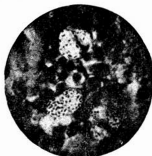


Fig. 87. Bacilo del rinoescleroma.

Corte de tejido con los microorganismos dentro de las células de Mikulicz. (Según Fränkel y Pfeiffer.)

La enfermedad es de evolución extraordinariamente lenta; el tratamiento quirúrgico resulta muy poco satisfactorio. Reyes (1946) ha estudiado 200 casos y ha comunicado que los mejores resultados se han obtenido con sulfonamidas acompañadas de roentgenterapia. La acción de la estreptomicina debe ser investigada.

KLEBSIELLA OZAENAE Y OCENA

El término ocena se emplea para designar un tipo de rinitis atrófica que se caracteriza por olor penetrante, extraordinariamente fétido. No hay acuerdo acerca de la causa de esta afección (Eagle, 1941). Ciertos tipos de la enfermedad pueden ser debidos a infecciones primarias; en otros, la infección puede ser secundaria a una alteración metabólica o endocrina.

En 1896, Abel aisló un bacilo capsulado, ahora llamado *K. ozaenae*, de pacientes con esta enfermedad. Julianelle (1935) encontró que cepas aisladas de casos de ocena poseían antígenos capsulares y somáticos muy diferentes de los encontrados en las cepas *K. pneumoniae*. Las cepas de *K. ozaenae* han sido subdivididas en ti-

pos D, E y F, según sus polisacáridos capsulares, aunque los antígenos somáticos parecen ser similares (Goslings y Snijders, 1936). La relación de *K. ozaenae* con *K. pneumoniae* se manifestó por el descubrimiento de tres cepas de *K. ozaenae* que tenían antígenos somáticos del tipo ocena, pero polisacáridos capsulares similares a los encontrados en la cápsula de *K. pneumoniae* de tipo C (Wielenga, 1937).

Se admite generalmente que *K. ozaenae* no es patógeno para los animales de laboratorio, pero Thornell (1946) aisló siete cepas altamente patógenas para los ratones. Cuatro pacientes han sido curados con estreptomicina (Herrell y Nichols, 1945).

EL BACILO DE PEREZ Y EL OCENA

En 1899, Pérez aisló un bacilo no capsulado, inmóvil, gramnegativo de casos de ocena. El organismo se desarrolló rápidamente en placas de agar-sangre y produjo un olor fétido característico. Hace algunos años uno de nuestros estudiantes, que sufría ocena, aisló de su propia nariz un microorganismo con las características del bacilo de Pérez. El bacilo de Pérez es patógeno para cobayos, conejos y ratones.

Topley y Wilson (1946) dudan para clasificar este organismo. Se asemeja a *Malleomyces pseudomallei* más que *K. ozaenae*, pero muestra algunas características que señalan hacia el *Proteus* aislado por Shiga (1922-23) y Michailoff (1926).

DONOVANI GRANULOMATIS Y GRANULOMA INGUINAL

El diagnóstico de laboratorio del granuloma inguinal venéreo depende de la demostración de los "cuerpos de Donovan" en las grandes células mononucleares encontradas en los tejidos granulomatosos. Estos cuerpos tienen algo más que una semejanza superficial con los organismos *Klebsiella* de gruesas cápsulas que, de tiempo en tiempo, han sido aislados de las lesiones granulomatosas. Sin embargo, los numerosos intentos para reproducir la enfermedad en el hombre y en los animales por inoculación de estas cepas cultivadas han fracasado uniformemente y la relación etiológica de los bacilos con la enfermedad ha sido puesta en duda (Dienst y col., 1938; Carter y col., 1939).

En 1945, Anderson, DeMonbreun y Goodpasture aislaron un bacilo capsulado cultivando trocitos de tejidos en el saco vitelino del embrión del pollo. Propusieron para este organismo el nombre de *Donovani granulomatis*. No pudieron obtener subcultivos en ningún otro tipo de medio de laboratorio.

Se aisló un material capsular que dió reacciones de precipitinas y que fijaba el complemento con los sueros de pacientes de granuloma inguinal. Una vacuna preparada con estos organismos dió cutirreacciones positivas en personas que sufrían la enfermedad. La reacción cutánea aparece 12 a 24 horas después de la inyección y desaparece rápidamente después de 24 a 36 horas. La enfermedad no pudo ser reproducida en los animales, pero los gallos inyectados con los cultivos del saco vitelino produjeron precipitinas y anticuerpos fijadores del complemento. Rake y sus colaboradores (1948) han investigado las relaciones antigénicas de *D. granulomatis* con los otros miembros del grupo Friedländer.

Se han producido infecciones experimentales en el hombre con cultivos en saco vitelino de *D. granulomatis* (Dienst y col., 1947) y se han obtenido excelentes resultados en las infecciones espontáneas por tratamiento con estreptomicina en dosis de 4 g diarios durante 5 días (Kupperman y col., 1948).

BIBLIOGRAFIA

ABEL, R. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt., 1893, 13:161.
——— *Ztschr. f. Hyg. u. Infectionskrankh.*, 1896, 21:89, 189.
ANDERSON, K., DEMONBREUN, W. A., and GOODPASTURE, E. W. *J. Exper. Med.*, 1945, 81:25.
BLAKE, F. G. *Arch. Int. Med.*, 1918, 21:779.
BLOOMFIELD, A. L. *Am. Rev. Tuberc.*, 1921, 4:847.
BOTSFORD, T. W., and KINNEY, T. D. *New Eng. J. Med.*, 1946, 235:539.
BROCK, R. C. *Guy's Hosp. Rept.*, 1946, 95:40.
CARTER, B., JONES, C. P., and THOMAS, W. L. *J. Infect. Dis.*, 1939, 64:314.
DIENST, R. B., GREENBLATT, R. B., and SANDERSON, E. S. *J. Infect. Dis.*, 1938, 62:112.
———, REINSTEIN, C. R., KUPPERMAN, H. S., and GREENBLATT, R. B. *J. Bacteriol.*, 1947, 54:91.
EAGLE, W. W. *Trans. Am. Therapeut. Soc.*, 1941, 41:1.
EDWARDS, P. R. *J. Bacteriol.*, 1928, 15:247; 1929, 17:399.
FALCÃO, P. C. *Arch. Otolar.*, 1947, 45:46.
FRÄNKEL. *Ztschr. f. klin. Med.*, 1886, 10.
FRIEDLÄNDER. *Virchow's Arch.*, 1882, 87.
——— *Fortchr. d. Med.*, 1883, 1; 1884, 2.
GOSLINGS, W. R. O., and SNIJDERS, E. P. *Centralbl. f. Bakteriol.*, 1936, 136:1.
GHISELIN, A. D., and ROBERTSON, R. B. *Arch. Otolar.*, 1947, 45:432.
GHOSH, L. M., and PANJA, D. *Indian Med. Gaz.*, 1945, 80:511.
HERRELL, W. E., and NICHOLS, D. R. *Proc. Staff. Meet. Mayo Clin.*, 1945, 20:449.
HUMPHERIES, J. C. *Yale J. Biol. & Med.*, 1944, 16:639.
HYDE, L., and HYDE, B. *Am. J. Med. Sci.*, 1943, 205:660.
JAFFE, S. A. *J.A.M.A.*, 1943, 122:292.
JULIANELLE, L. A. *J. Exper. M.*, 1926, 44:113, 683, 735; 1930, 52:539.
——— *J. Bacteriol.*, 1935, 30:535.
——— *Ann. Int. Med.*, 1941, 15:190.
KUPPERMAN, H. S., GREENBLATT, R. B., and DIENST, R. B. *J.A.M.A.*, 1948, 136:84.
MICHAILOFF, A. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1926, 39:158.
MIKULICZ. *Arch. f. Chir.*, 1876, 20.
MORRIS, M. C. and JULIANELLE, L. A. *J. Infect. Dis.*, 1934, 55:150.
OSTERMAN, E., and RETTGER, L. F. *J. Bacteriol.*, 1941, 42:699, 721.
PÉREZ, F. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1899, 13:937.
PERLMAN, E., and BULLOWA, J. G. M. *Arch. Int. Med.*, 1941, 67:907.
RAKE, G. *Am. J. Syph. Gon. & Ven. Dis.*, 1948, 32:150-158.
——— and OSKAY, J. J. *J. Bacteriol.*, 1948 (en prensa).
——— *J. Bacteriol*, 1948 (en prensa).
RAKIETEN, M. L., EGGERTH, A. H., and RAKIETEN, T. L. *J. Bacteriol.*, 1940, 40:529.
REYES, E. *Arch. Dermat. & Syph.*, 1946, 54:531.
SHIGA, M. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt., 1922, 88:521; 1923, 90:78.
SMITH, D. T. *Trans. Am. Clin. & Climat. Assn.*, 1947, 58:94.
SMITH, M. R., and WOOD, W. B., JR. *J. Exper. M.*, 1947, 86:257.
SOLOMON, S. *New Eng. J. Med.*, 1947, 237:149.
SWARTZ, E. P., and ROHDE, P. A. *Am. J. Clin. Path.*, 1946, 16:88.
TARTAKOFF, S., GRYNBAUM, B., and LECOMPTE, P. M. *New Eng. J. Med.*, 1946, 235:681.
THORNELL, W. C. *Proc. Staff. Meet. Mayo Clin.*, 1946, 21:90.
TOPLEY, W. W. C., and WILSON, J. *Principles of Bacteriology and Immunology*, 3rd ed., Williams & Wilkins, Baltimore, 1946.
WALCHER, D. N. *J. Clin. Invest.*, 1946, 25:103.
WALLACE, G. L., CAHN, A. R., and THOMAS, L. J. *J. Infect. Dis.*, 1933, 53:386.
WEBSTER, L. T. *J. Exper. M.*, 1930, 52:909.
WEICHSELBAUM. *Med. Jahrb., Wien*, 1886.
WIKLENGA, D. K. *N. V. Noord-Hollandsche Uitgeversmaatschappij*, Amsterdam, 1937.
——— Quoted by Topley & Wilson, 1946.

BIBLIOGRAFIA

ABEL, R. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt., 1893, 13:161.
——— *Ztschr. f. Hyg. u. Infectionskrankh.*, 1896, 21:89, 189.
ANDERSON, K., DEMONBREUN, W. A., and GOODPASTURE, E. W. *J. Exper. Med.*, 1945, 81:25.
BLAKE, F. G. *Arch. Int. Med.*, 1918, 21:779.
BLOOMFIELD, A. L. *Am. Rev. Tuberc.*, 1921, 4:847.
BOTSFORD, T. W., and KINNEY, T. D. *New Eng. J. Med.*, 1946, 235:539.
BROCK, R. C. *Guy's Hosp. Rept.*, 1946, 95:40.
CARTER, B., JONES, C. P., and THOMAS, W. L. *J. Infect. Dis.*, 1939, 64:314.
DIENST, R. B., GREENBLATT, R. B., and SANDERSON, E. S. *J. Infect. Dis.*, 1938, 62:112.
———, REINSTEIN, C. R., KUPPERMAN, H. S., and GREENBLATT, R. B. *J. Bacteriol.*, 1947, 54:91.
EAGLE, W. W. *Trans. Am. Therapeut. Soc.*, 1941, 41:1.
EDWARDS, P. R. *J. Bacteriol.*, 1928, 15:247; 1929, 17:399.
FALCÃO, P. C. *Arch. Otolar.*, 1947, 45:46.
FRÄNKEL. *Ztschr. f. klin. Med.*, 1886, 10.
FRIEDLÄNDER. *Virchow's Arch.*, 1882, 87.
——— *Fortchr. d. Med.*, 1883, 1; 1884, 2.
GOSLINGS, W. R. O., and SNIJDERS, E. P. *Centralbl. f. Bakteriol.*, 1936, 136:1.
GHISELIN, A. D., and ROBERTSON, R. B. *Arch. Otolar.*, 1947, 45:432.
GHOSH, L. M., and PANJA, D. *Indian Med. Gaz.*, 1945, 80:511.
HERRELL, W. E., and NICHOLS, D. R. *Proc. Staff. Meet. Mayo Clin.*, 1945, 20:449.
HUMPHERIES, J. C. *Yale J. Biol. & Med.*, 1944, 16:639.
HYDE, L., and HYDE, B. *Am. J. Med. Sci.*, 1943, 205:660.
JAFFE, S. A. *J.A.M.A.*, 1943, 122:292.
JULIANELLE, L. A. *J. Exper. M.*, 1926, 44:113, 683, 735; 1930, 52:539.
——— *J. Bacteriol.*, 1935, 30:535.
——— *Ann. Int. Med.*, 1941, 15:190.
KUPPERMAN, H. S., GREENBLATT, R. B., and DIENST, R. B. *J.A.M.A.*, 1948, 136:84.
MICHAILOFF, A. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1926, 39:158.
MIKULICZ. *Arch. f. Chir.*, 1876, 20.
MORRIS, M. C. and JULIANELLE, L. A. *J. Infect. Dis.*, 1934, 55:150.
OSTERMAN, E., and RETTGER, L. F. *J. Bacteriol.*, 1941, 42:699, 721.
PÉREZ, F. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1899, 13:937.
PERLMAN, E., and BULLOWA, J. G. M. *Arch. Int. Med.*, 1941, 67:907.
RAKE, G. *Am. J. Syph. Gon. & Ven. Dis.*, 1948, 32:150-158.
——— and OSKAY, J. J. *J. Bacteriol.*, 1948 (en prensa).
——— *J. Bacteriol*, 1948 (en prensa).
RAKIETEN, M. L., EGGERTH, A. H., and RAKIETEN, T. L. *J. Bacteriol.*, 1940, 40:529.
REYES, E. *Arch. Dermat. & Syph.*, 1946, 54:531.
SHIGA, M. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt., 1922, 88:521; 1923, 90:78.
SMITH, D. T. *Trans. Am. Clin. & Climat. Assn.*, 1947, 58:94.
SMITH, M. R., and WOOD, W. B., JR. *J. Exper. M.*, 1947, 86:257.
SOLOMON, S. *New Eng. J. Med.*, 1947, 237:149.
SWARTZ, E. P., and ROHDE, P. A. *Am. J. Clin. Path.*, 1946, 16:88.
TARTAKOFF, S., GRYNBAUM, B., and LECOMPTE, P. M. *New Eng. J. Med.*, 1946, 235:681.
THORNELL, W. C. *Proc. Staff. Meet. Mayo Clin.*, 1946, 21:90.
TOPLEY, W. W. C., and WILSON, J. *Principles of Bacteriology and Immunology*, 3rd ed., Williams & Wilkins, Baltimore, 1946.
WALCHER, D. N. *J. Clin. Invest.*, 1946, 25:103.
WALLACE, G. L., CAHN, A. R., and THOMAS, L. J. *J. Infect. Dis.*, 1933, 53:386.
WEBSTER, L. T. *J. Exper. M.*, 1930, 52:909.
WEICHSELBAUM. *Med. Jahrb.*, *Wien*, 1886.
WIELENGA, D. K. *N. V. Noord-Hollandsche Uitgeversmaatschappij*, Amsterdam, 1937.
——— Quoted by Topley & Wilson, 1946.

CAPITULO XXXI

EL GRUPO COLI AEROGENES PROTEUS

Miles de millones de bacilos gramnegativos no esporulados se encuentran en las excreta del hombre y de los animales. Están también presentes en grandes números sobre granos, pastos, vegetales en descomposición y en el suelo y el agua.

En la sexta edición del libro *Manual of Determinative Bacteriology*, de Bergey, estos organismos están reunidos en la familia *Enterobacteriaceae*, la cual se subdivide en cinco grupos: 1) *Eschericheae;* 2) *Erwineae;* 3) *Serrateae;* 4) *Proteae;* 5) *Salmonelleae.*

El grupo *Eschericheae* se compone de tres géneros: 1) *Escherichia;* 3) *Aerobacter;* 3) *Klebsiella.* Los organismos pertenecientes al último género han sido descritos en el capítulo precedente.

En el género *Aerobacter* se reconocen dos especies: 1) *A. aerogenes,* y 2) *A. cloacae.* Las numerosas especies descritas antiguamente en el género *Escherichia* han sido reducidas a *E. coli, E. freundii* y *E. intermedium.*

Aerobacter aerogenes está ampliamente distribuído en la Naturaleza y tiene múltiples actividades bioquímicas. Su adaptabilidad extrema se subraya por su capacidad de utilizar el ácido cítrico como única fuente de carbono. Es posible que *A. aerogenes* sea similar, si no idéntico, a la bacteria original desde la cual han evolucionado los diversos géneros y especies de esta familia. En ella, la correspondencia de actividades químicas y estructuras antigénicas ha estimulado a diversos observadores a clasificar todos estos organismos en un género que contiene cinco especies (Parr, 1939; Jordan y Burrows, 1945; Topley y Wilson, 1946).

Hemos intentado señalar en forma de esquema (fig. 88) algunas de las relaciones conocidas o especificadas entre los diferentes géneros y especies contenidas en este grupo de microorganismos. Conocemos los peligros que entrañan tales intentos de mayor simplificación y clasificación arbitraria, pero esperamos que el esquema ayude al estudiante a establecer las probables relaciones entre los diversos miembros de este grupo de bacilos. *Aerobacter aerogenes* no es patógeno y la mayor parte de cepas de *Escherichia* y de *Proteus* no son capaces de infectar al hombre o a los animales. No obstante, ciertas cepas de *Escherichia* y *Proteus,* y algunos de los organismos clasificados como intermedios entre los grupos *coli* y *aerogenes,* pueden ser considerados como *oportunistas.* Tales cepas, en condiciones excepcionales, pueden producir en el hombre graves lesiones locales e incluso enfermedad generalizada mortal, pero son incapaces de producir epidemias, como hacen las diversas especies de *Salmonella* y *Shigella.* Los bacilos paracoli parecen ocupar una posición intermedia entre los verdaderos bacilos coli y los organismos patógenos de los géneros *Salmonella* y *Shigella,* en lo que se refiere a sus actividades bioquímicas y patógenas y a sus estructuras antigénicas. Los bacilos paracoli pueden producir una enfermedad mortal en reptiles y pájaros; en el hombre, una enteritis que semeja la causada por salmonelas (Atkinson, 1945; Edwards y col., 1947). *Proteus morganii* pertenece biológicamente al género *Proteus,* pero produce una enfermedad que no puede distinguirse del tipo de disentería causada habitualmente por shigelas.

Klebsiella pneumoniae es altamente patógena para el hombre y en ocasiones causa epidemias de neumonía. *Erwinia*, microorganismo patógeno de las plantas que produce reblandecimiento de la raíz en muchas especies, se parece a *E. freundii* y *A. cloacae* por sus reacciones bioquímicas, pero es muy activo en licuar la gelatina. Tiene también algunos antígenos menores comunes con los organismos *Shigella* (Elrod, 1946).

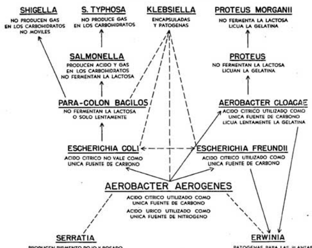


FIG. 88. LA FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE.

Las líneas continuas y de trazos indican las líneas posibles de evolución de *Enterobacteriaceae* a partir de *Aerobacter aerogenes*.

En general, los miembros más patógenos del grupo son los menos activos bioquímicamente; la mayor parte de los patógenos no fermentan la lactosa. Aunque es esencial la presencia de una cápsula para que sean virulentas las *Klebsiella*, las cepas capsuladas de *A. aerogenes* tienen poca o ninguna virulencia.

GRUPO COLI

Familia: *Enterobacteriaceae* Rahn. Grupo: *Eschericheae* Bergey, Breed y Murray. Género: *Escherichia* Castellani y Chalmers. Especie: *Escherichia coli* (Migula) Castellani y Chalmers

El colibacilo suele encontrarse como organismo predominante en el intestino del hombre y de los animales. El microorganismo fué descrito por Buchner en 1885 y estudiado en detalle por Escherich en 1886.

El colibacilo logra penetrar en el intestino poco después del nacimiento y persiste allí durante toda la vida. Se encuentra en grandes cantidades en la región de la válvula ileocecal y disminuyen en número hacia el duodeno y el recto (Cushing y Livingood, 1900). Los colibacilos tienen probablemente una función útil en el organismo impidiendo el desarrollo de ciertos organismos proteolíticos normalmente presentes en los intestinos, y sintetizando cantidades apreciables de vitaminas (Gant y colaboradores, 1942).

No se pueden producir en los animales ciertas carencias del complejo vitamínico B por restricciones en la dieta a menos que se supriman o eliminen primero los colibacilos por ingestión de grandes cantidades de sulfonamidas (Burkholder y McVeigh, 1942).

El intestino es el habitat natural del colibacilo coli; si bien el organismo está ampliamente distribuído en el suelo y en el agua, el ingeniero sanitario suele considerar su presencia en la naturaleza como prueba de contaminación fecal. Aunque no es importante como causa de enfermedad, su presencia en el agua o alimentos indica posible contaminación fecal y señala, además, que pueden estar presentes algunos patógenos entéricos como las salmonelas y las shigelas.

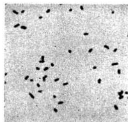


FIG. 89. E. COLI.
De un cultivo liso × 1 200.

Morfología y tinción. *Escherichia coli* es un bacilo grueso, corto de 0,4 a 0,7 μ de ancho y de 1 a 4 μ de longitud (fig. 89). Con frecuencia se encuentran en los exudados y cultivos jóvenes, formas cocoides y cadenas cortas, mientras que en los cultivos viejos se ven con mayor frecuencia bacilos largos y formas filamentosas. La *motilidad* varía grandemente según los cultivos; algunas cepas presentan movilidad activa, otras movilidad lenta y algunas son inmóviles. *No forman esporas*, pero un pequeño porcentaje de las cepas presentan cápsulas.

Son *gramnegativos* y se tiñen uniformemente con los colorantes usuales de anilina. No presentan estructuras internas características.

Caracteres de cultivo. Los colibacilos son *aerobios*, pero también anaerobios facultativos. Se desarrollan rápidamente (24 horas) en todos los medios usuales a temperaturas que varían entre 20° y 40° C. Su poder de síntesis es tal que los bacilos crecen en un medio compuesto de sales inorgánicas, una sal amónica y glucosa.

En placas de *agar* las colonias superficiales aparecen en 12 a 24 horas, alcanzando, en 48 horas un tamaño de 2 a 3 mm. Hay variación considerable en el aspecto individual de las colonias. La colonia típica es plana, convexa, lisa e incolora, aunque algo opaca, con borde unido. Algunas colonias son menores y de forma de cúpula más acentuada, mientras que otras, presumiblemente las cepas más activamente móviles, producen una típica colonia en forma de hoja de vid, característica de las colonias formadas por especies de *Salmonella*. Algunas cepas producen colonias más translúcidas, que semejan las de *Klebsiella*.

Sobre *agar-sangre*, se produce una decoloración en el medio inmediatamente alrededor de la colonia; algunas razas producen hemólisis del tipo *beta*.

En *medio de Endo* y en *medio de eosina-azul de metileno*, las colonias de *E. coli* tienen un reflejo metálico peculiar que se observa mejor con luz reflejada.

En *caldo* se produce un enturbiamiento homogéneo en 12 a 48 horas; en 24 a 48 horas tiene lugar la formación de una ligera película y en el fondo del tubo se acumula un depósito viscoso.

Generalmente forma *indol* en *caldo-peptona* y *coagulan la leche; no licuan la gelatina.*

Fermentan la *glucosa, lactosa, maltosa* y otros azúcares, con producción de *ácido* y *gas.*

Alrededor del 50 por ciento de las cepas fermentan la *sacarosa;* a éstas se les ha denominado *E. coli communior,* mientras que el otro 50 por ciento que no fermentan este azúcar se les llama *E. coli communis.* La incapacidad de hacer fermentar la sacarosa no tiene significación biológica.

Los cultivos de colibacilos se caracterizan por un olor fétido peculiar, semejante al de las heces diluídas. El ácido formado por fermentación de los carbohidratos es principalmente *ácido láctico* con pequeñas cantidades de *ácidos fórmico* y *acético.* Se producen *anhídrido carbónico* e *hidrógeno* en cantidades aproximadamente iguales.

Resistencia. Los bacilos coli sobreviven durante semanas en cultivos conservados a la temperatura de la habitación, y durante meses en el suelo y agua. Su resistencia a los antisépticos usuales es igual o ligeramente mayor que la de los micrococos. La mayor parte de las cepas mueren en 15 a 20 minutos a la temperatura de 60° C., pero algunas sobreviven al proceso de la pasteurización y pueden alterar el color y el sabor de la leche. En la purificación del agua, el cloro, en concentraciones de 0,5 a 1 por un millón, es bactericida eficaz para *A. aerogenes, E. coli* y varias especies de *Salmonella* y *Shigella.*

El *verde brillante* inhibe selectivamente el desarrollo de especies de *Escherichia, Aerobacter* y *Shigella,* pero es menos eficaz contra los organismos de *Salmonella.*

El *desoxicolato sódico* en presencia de *citrato sódico* inhibe el desarrollo de *Escherichia* y *Aerobacter,* con poca acción sobre *Salmonella* o *Shigella.*

La cafeína, el cloruro de litio, el telurito potásico, las sales de selenio y el tetrationato tienen todos acción inhibidora diferencial sobre el desarrollo de los colibacilos y otros miembros del grupo entérico (Knox, Gell y Pollock, 1943).

La inhibición diferencial por estas substancias no es segura para el diagnóstico, pero cuando se incorporan al agar en las concentraciones adecuadas, junto con 0,1 por ciento de glucosa, 1 por ciento de lactosa y un indicador apropiado, se obtienen medios excelentes para el aislamiento de gérmenes patógenos. Quedan inhibidos todos los organismos grampositivos de las heces, y la mayor parte de las especies de *Escherichia* y *Aerobacter.* Las colonias supervivientes, sin embargo, suelen producir el color rosa o rojo característico de los fermentadores de la lactosa y pueden ser diferenciadas de las colonias incoloras de los organismos que no hacen fermentar la lactosa.

Las *sulfonamidas,* en las concentraciones encontradas en sangre, son ineficaces contra estos organismos, pero se logra cierta inhibición empleando concentraciones mayores como las que se pueden alcanzar en el intestino o en la orina. La *penicilina* es ineficaz, pero la *estreptomicina* inhibe el desarrollo de *E. coli* en concentraciones que varían entre 0,3 y 7,5 microgramos por c.c. de cultivo líquido. *

Variabilidad. En condiciones apropiadas, *E. coli* forma los tipos usuales de colonias M, S y R. La mayor parte de las cepas de *E. coli,* recién aisladas de las lesiones o de las heces, son móviles y están en fase S. La fase M se encuentra menos frecuentemente que la S y en muchos casos es menos patógena que algunas de las formas S (Kauffmann, 1947). *A. aerogenes* es inmóvil, se encuentra casi siempre en

* La aureomicina y la cloromicetina son eficaces en las infecciones causadas por *E. coli.* (N. del T.)

fase M y no es patógeno. Colwell (1946) ha estudiado una colonia pequeña de tipo G. La variante carece de la facultad de producir gas con los carbohidratos, pero la adquiere de nuevo cuando vuelve a la forma grande original.

Las reacciones bioquímicas y la estructura antigénica pueden mostrar variaciones correspondientes a los cambios de colonia, pero con frecuencia estos cambios no se pueden relacionar de manera constante. En un estudio de 132 cultivos guardados durante dos años, 59 presentaron alteraciones en sus propiedades bioquímicas en la morfología de la colonia, o en ambas (Nyberg, Bonsdorff y Kauppi, 1937). Stuart y colaboradores (1938) observaron variaciones en 47 de 191 cepas.

El interés se ha centrado alrededor de las cepas de *E. coli* conocidas como *E. coli mutabile* desde su descubrimiento por Neisser (1906) y Massini (1907). Estas cepas se desarrollan profusamente en caldo lactosado, pero sólo hacen fermentar este carbohidrato después de incubación durante 7 o más días. Cuando se siembran en placa con *medio de Endo* se desarrollan rápidamente y las colonias son incoloras hasta que en la colonia madre aparecen pequeñas *papilas* rojas. Los subcultivos de estas papilas rojas mantienen la facultad de producir colonias rojas, que fermentan la lactosa, mientras que los subcultivos tomados de las porciones incoloras de la colonia madre continúan produciendo colonias incoloras que, a su vez, dan origen a variantes que fermentan la lactosa en proporción constante de 1 por cada 100 000 células (Lewis, 1934; Hershey y Bronfenbrenner, 1936). Otras cepas de *E. coli* aisladas por Parr y Simpson (1940) presentan el mismo tipo constante de variación; las variantes adquieren la facultad de desarrollarse con ácido cítrico como única fuente de carbono. Las cepas de Parr han sido utilizadas para estudiar algunos de los problemas básicos concernientes a la mutabilidad de las bacterias (Zamenhof, 1946). Estas cepas mutables de *E. coli* suelen considerarse como no patógenas, pero Dulaney y Michelson (1935) encontraron este organismo, en cultivo casi puro, en las deyecciones de un grupo de niños que sufrían diarrea epidémica.

E. coli, así como toda la familia de *Enterobacteriaceae*, parece estar en un estado activo de evolución (Parr y Robbins, 1942).

Metabolitos bacterianos. Al fermentar la glucosa, *E. coli* produce anhídrido carbónico e hidrógeno en proporciones aproximadamente iguales. Por el contrario, *A. aerogenes* produce, de la misma cantidad de glucosa, doble volumen de anhídrido carbónico que de hidrógeno. *E. coli* forma catalasa y sintetiza las vitaminas del complejo B (Gant y col., 1942).

No forman *exotoxinas*, a menos que la *hemolisina beta* sea considerada como exotoxina. Las *endotoxinas* son comunes al grupo y están presentes en cepas que no poseen capacidad invasiva. La mayor parte de las cepas patógenas producen también *factor necrosante*.

Estructura antigénica. La revisión de Kauffmann hecha en 1947 demuestra que el grupo de organismos *coli* es tan variado y complejo en su estructura antigénica como lo son los grupos *Salmonella* y *Shigella*.

Kauffmann divide las diversas cepas de *E. coli* en grupos, según sus aglutinógenos O o somáticos. De un total de 110 grupos, se utilizaron 25 para análisis antigénico. Los antígenos flagelares eran monofásicos y variaban de un grupo a otro. Se usaron para la clasificación sueros preparados de 21 antígenos H.

Alrededor del 70 por ciento de las cepas recién aisladas de pacientes eran inaglutinables en los sueros anti-O a causa de la presencia de un antígeno A capsular o de los antígenos de superficie o envolventes L o B. El antígeno L se parece al antígeno Vi encontrado en ciertas salmonelas pero se destruye más fácilmente por el

calor. La propiedad de unión del antígeno B es termoestable y se puede suprimir por absorción. El antígeno gamma, encontrado por Stamp y Stone (1944) en cepas recién aisladas de *E. coli*, era más termoestable que el antígeno H, pero menos resistente al calor que los antígenos O. El antígeno V corresponde probablemente a los antígenos L o B de Kauffmann.

El antígeno A es un verdadero polisacárido capsular que no se destruye por el calor y, por tanto, puede ser absorbido. La naturaleza de los antígenos de polisacáridos capsulares está siendo investigada por Heidelberger y Kauffmann.

En 1928, Teobaldo Smith estudió la relación entre substancias capsulares y formación de anticuerpos; en 1935, Barnes y Wight encontraron una cepa de *E. coli* que tenía un polisacárido similar al del neumococo de tipo I. Lovell (1937) investigó 110 cepas de bacilos capsulados de *E. coli*, aislados de casos de diarrea de las terneras y encontró que 79 de las cepas podían ser distribuidas en 8 grupos por pruebas de precipitación.

No existe relación bien definida entre el poder patógeno y alguno de los caracteres en particular. Sin embargo, las cepas patógenas, en general, poseen una o más de las propiedades siguientes: ausencia de aglutinación en sueros anti-O, toxicidad intensa, hemolisinas y toxinas necrosantes. La mayor parte de las cepas que poseen estas cualidades se hallan en los grupos 2, 4, 6, 8 ó 9. Según Dudgeon y colaboradores (1923), muchas cepas hemolíticas de *E. coli*, obtenidas en casos de infección aguda genitourinaria, podían ser clasificadas en un grupo serológico. Stuart y colaboradores (1943) encontraron un antígeno de tipo Vi, al parecer idéntico al de *Salmonella typhosa* S.107 y *Salmonella ballerup*, en cierto número de cepas aparentemente normales de *E. coli* y bacilos paracoli.

La mayor parte de los tipos de bacteriófago tienen limitadas sus actividades a cepas de *E. coli* que están desprovistas de cápsulas o antígenos envolventes (Powers y col., 1938; Kauffmann, 1947), pero se han referido algunos tipos específicos para *E. coli* capsulados (Toft, 1946).

Enfermedad experimental en animales de laboratorio. Los cobayos, conejos y ratones mueren por las endotoxinas de *E. coli*. Las cepas que poseen la toxina necrosante producen abscesos cuando se inyectan subcutáneamente a conejos. La inyección intratraqueal de *E. coli*, vivos o muertos, ocasiona neumonitis con focos de necrosis (Dubin y Kerby, 1943).

Teobaldo Smith (1928) encontró diversas cepas de *E. coli* capsuladas que podían causar diarrea en terneras recién nacidas y mal nutridas. Se podía proteger a las terneras por administración de un suero antibacteriano o mejorando la alimentación o las condiciones de vida de sus madres (Parr, 1939). Este es un ejemplo del *poder patógeno condicional* presentado por *E. coli*.

Tipos clínicos de infección en el hombre. En los niños deshidratados, *E. coli* invade a veces el yeyuno y el duodeno y produce ácidos irritantes por fermentación de la lactosa de la leche ingerida. Estos ácidos y otros metabolitos de *E. coli* irritan el intestino y causan náuseas violentas, vómitos y diarrea. La enfermedad resultante es la llamada en los textos modernos de pediatría *diarrea de verano*, pero en los libros de Medicina más antiguos era designada cólera infantil. Este síndrome puede acabar en la muerte en dos a cuatro días (Davison, 1924-25).

El niño recién nacido es más susceptible a las infecciones por *coli* que los niños mayores o los adultos. En ocasiones se produce una infección generalizada por bacilo coli conocida como septicemia hemorrágica. Quizá se desarrolle cierto grado de inmunidad después que el niño ha obtenido su dotación completa de bacilos coli. Los niños y animales recién nacidos no tienen aglutininas en su sangre para

E. coli, pero los sueros de los niños mayores y adultos con frecuencia aglutinan a *E. coli* en diluciones de 1:10 a 1:20. El aumento de aglutininas para *E. coli*, consecutivo de la fiebre tifoidea o disentería, se puede explicar por aumento de las aglutininas de grupo y por la inevitable invasión local de colibacilos en las zonas ulceradas que produjeron los patógenos.

Los colibacilos son la causa más frecuente de *cistitis*, *pielitis* y *pielonefritis* (Hill y col., 1929; Stuart y col., 1943; Schaub, 1946).

Generalmente están presentes en la luz de los apéndices con inflamación aguda y en el exudado peritoneal de casos de peritonitis. La creencia generalmente aceptada de que los colibacilos sólo actúan como invasores secundarios en apendicitis y peritonitis no siempre es cierta.

Las infecciones de la *vesícula biliar*, *vías biliares* e *hígado* no son raras. La septicemia puerperal con trombosis de las venas pelvianas puede ocasionar una siembra pulmonar por un émbolo infectado. Se han publicado casos de *neumonía* seguida de *formación de absceso* (Dubin y Kerby, 1943). En casos raros, los colibacilos producen *meningitis* y *septicemia*.

En general, los colibacilos más que verdaderos patógenos son *oportunistas*, pero la presencia de hemolisinas y metabolitos necrosantes en ciertas cepas hace suponer que su importancia como invasores primarios haya sido, quizás, subestimada.

Transmisión. La flora bacteriana del intestino humano está sujeta a un cambio constante. Están constantemente apareciendo cepas de *E. coli* nuevas, antigénicamente diferentes, conforme desaparecen las viejas (Wallick y Stuart, 1943; Perch, 1944). No hay pruebas de que ninguna de las cepas patógenas sea capaz de provocar enfermedad epidémica.

Tratamiento. La *terapéutica por sulfamidas* es eficaz en el tratamiento de algunas de las infecciones por coli de las vías genitourinarias, especialmente si se pueden eliminar factores mecánicos locales tales como cálculos o estrecheces. La *penicilina* es ineficaz, pero la *estreptomicina* cura a muchos pacientes que no mejoran con sulfamidoterapia. *E. coli* desarrolla rápidamente cepas resistentes a las sulfonamidas, la estreptomicina o ambas. *

Prevención. La práctica de administrar sulfonamidas, tanto antes como después de las apendicectomías, ha tenido por resultado una disminución del número de fallecimientos por perforación o peritonitis. La morbilidad y la mortalidad en la infancia por diarreas de verano se ha reducido materialmente por la ingestión de leche ácida (Davison, 1935).

Escherichia freundii (Braak). *E. freundii* se parece a *E. coli* en su morfología y reacciones de cultivo. Las diferencias entre las dos especies estriban en la facultad de *E. freundii* de utilizar el ácido cítrico como única fuente de carbono y de producir SH_2. Las diferentes cepas de *E. freundii* varían en su capacidad de producir indol.

E. freundii y otros *intermedios* entre los grupos *coli* y *aerogenes* han sido aislados de enfermos.

BACILOS PARACOLI

Paracolobactrum Borman, Stuart y Wheeler. Los bacilos de tipo coli que hacen fermentar tardía, pobre e irregularmente la lactosa o no la modifican, suelen reunirse con el nombre de bacilos paracoli. Las cepas que producen ácido sin gas son *anaerógenas*. Se han aislado de deyecciones normales (Stuart y col., 1943), de

* La aureomicina y la cloromicetina son muy eficaces contra las infecciones por *E. coli*. (N. del T.)

la orina de pacientes con infecciones de las vías genitourinarias (Schaub, 1946) y de casos de enteritis agudas (Christensen, 1946).

Otro grupo de bacilos paracoli, el denominado Arizona por Edwards y colaboradores (1947), ha sido aislado de casos mortales de infección en serpientes, pollos y pavos (Hinshaw y McNeil, 1947). Las cepas Arizona de bacilos paracoli se han aislado de casos de enteritis en el hombre (Edwards y col., 1947) y de un brote de intoxicación alimenticia en Australia (Atkinson, 1945). Es significativo que 121 de los 456 cultivos de Edwards se obtuvieron de huevos en polvo.

El análisis antigénico del grupo Arizona demostró que puede ser dividido en 19 grupos somáticos y 55 tipos. Algunos tipos contenían antígenos *Salmonella* O y H (Edwards y col., 1947).

Otro grupo de bacilos paracoli, obtenido de serpientes, tenía antígenos flagelares difásicos (West y col., 1947).

Algunos de los bacilos paracoli aislados del intestino del hombre están relacionados antigénicamente con el grupo de organismos *Shigella* (Sewitt, 1945) y otros con el *Salmonella* (Stuart y col., 1943).

GRUPO AEROGENES

Aerobacter aerogenes (Kruse) Beijerinck. Escherich (1885) aisló de las deyecciones de niños pequeños un bacilo corto, grueso, inmóvil, gramnegativo, que ahora se denomina *Aerobacter aerogenes*. De ordinario es capsulado, pero con frecuencia se observan cepas no capsuladas. Es el organismo predominante en la lecha agria; originalmente fué denominado *Bacterium lactis aerogenes*. Es, en principio, un saprófito que se encuentra en la Naturaleza, y de manera absolutamente regular en las heces del hombre y animales, pero en número mucho menor que *E. coli*. *A. aerogenes* es biológicamente más activo que *E. coli;* utiliza el ácido cítrico como la única fuente de carbono y el ácido úrico como única fuente de nitrógeno (Mitchell y Levine, 1938). En glucosa produce doble cantidad de anhídrido carbónico que de hidrógeno. Fermenta el almidón; Wilson (1933) ha utilizado este carácter diferencial en la preparación de un medio para distinguir *A. aerogenes* de *E. coli*. En el cuadro al final de este capítulo se resumen otras reacciones bioquímicas.

No hay prueba convincente de que *A. aerogenes* sea patógeno para el hombre o los animales.

Aerobacter cloacae (Jordan) Bergey y colaboradores. Este organismo fué aislado de las alcantarillas por Jordan en 1890. *A. cloacae* se parece al germen *A. aerogenes* en sus caracteres morfológicos y de cultivo, excepto en que rara vez fermenta el almidón, nunca forma indol y licua lentamente la gelatina.

PRUEBAS DIFERENCIALES ESPECIALES USADAS EN EL EXAMEN DE LOS GERMENES DEL AGUA

Las reacciones bioquímicas usuales no diferencian el grupo de bacilos *coli* del grupo *aerogenes*. Como este último se presenta primitivamente en la Naturaleza y sus gérmenes pueden estar presentes en el agua en ausencia de contaminación fecal, los ingenieros sanitarios desean una prueba que separe los contaminantes fecales de los no fecales. Se han ideado numerosas pruebas para hacer esta diferenciación, pero, desgraciadamente, el problema no está resuelto todavía, porque los organismos

aerogenes también aparecen en las heces y pueden aumentar en número en relación con los organismos *coli* a medida que la muestra fecal envejece fuera del organismo (Parr, 1939). Además de las reacciones bioquímicas que demuestran la presencia de *A. aerogenes,* con frecuencia son necesarias pruebas suplementarias antes de considerar el suministro de agua libre de contaminación fecal. La falta de métodos prácticos para distinguir *E. coli* de *A. aerogenes* en muestras de agua de bebida no es muy desconcertante, puesto que la presencia de uno u otro de los organismos indica que hay contaminaciones del agua que es necesario corregir.

Prueba del rojo de metilo. Esta prueba se basa en la concentración final de hidrogeniones alcanzada por un cultivo de caldo glucosado al 0,5 por ciento, después de 4 días de incubación a 37° C. (Clark, 1915). Cuando se añade al cultivo rojo de metilo, el indicador tendrá color rojo anaranjado (positivo) si el pH es de 4,5 o menos, y amarillo (negativo), si la reacción es menos ácida. *A. aerogenes,* por definición, da negativa la prueba del rojo de metilo; *E. coli* la da positiva.

Reacción de Voges-Proskauer. Esta reacción depende de la producción de acetil-metil-carbinol a partir de la glucosa. En presencia de un álcali y del oxígeno atmosférico, el acetil-metil-carbinol se oxida y pasa a *diacetilo* que reacciona con la peptona del caldo y da color rojo. La prueba se efectúa añadiendo 5 c.c. de hidróxido de sodio al diez por ciento a 10 c.c. de un cultivo de caldo glucosado, después de 4 días de incubación a 37° C. El color rosa indica resultado positivo; *E. coli* es Voges-Proskauer negativa. La modificación del medio de O'Meara (1931) por adición de creatina según Tittsler (1933) es ventajosa proporcionando resultados más precisos y rápidos.

Desarrollo en medio de citrato sódico. Koser (1924) descubrió que *E. coli* era incapaz de utilizar el citrato sódico como fuente de carbono, mientras que *A. aerogenes* podía utilizar esta sal. La capacidad de desarrollarse en un medio sintético que contenga nitrógeno en forma de fosfato doble de sodio y amonio y carbono como citrato sódico, distingue a *A. aerogenes* de *E. coli.*

Otras *pruebas especiales* de valor diferencial son la fermentación de la celobiosa (Jones, 1924), la prueba de Eijkman (desarrollo y fermentación de la glucosa por *E. coli* a 46° C.) y la descomposición del ácido úrico (Koser, 1918) en un medio sintético.

Parr (1936) propuso una pauta para indicar los resultados de las cuatro más importantes pruebas. Indol = I; rojo de metilo = M; Voges-Proskauer = V; y utilización del citrato = C. La *IMVIC* es + + — — para *E. coli;* para *A. aerogenes,* — — + +. Sin embargo, hay cepas intermedias entre *E. coli* y *A. aerogenes;* Parr (1939) ha encontrado 14 de las 16 combinaciones posibles.

Las reacciones bioquímicas de las cepas tipo del grupo *coli-aerogenes-proteus* se indican en la tabla que se halla al final de este capítulo.

GRUPO PROTEUS

Hauser, en 1885, aisló de las heces, agua, alcantarillas y materiales descompuestos cierto número de cepas de un bacilo móvil, aerobio, gramnegativo. Se parece a *E. coli* en la morfología y caracteres de cultivo, excepto en que las cepas móviles *pululan* sobre la superficie del agar, cubriendo toda la placa en 24 horas con un desarrollo fino, delicado, seudomembranoso. Son difíciles de obtener colonias aisladas de estos *invasores.*

Proteus vulgaris (Hauser) no fermenta la lactosa, ni produce indol, pero licua la gelatina con gran rapidez. *P. mirabilis, P. ammoniae, P. rettgeri* y *P. morganii* se

diferencian de *P. vulgaris* por las fermentaciones de los carbohidratos y otras reacciones *(Manual of Determinative Bacteriology* de Bergey, sexta edición, 1948).

Es probable que los bacilos del ocena de Pérez y Shiga sean miembros del grupo *Proteus*. Para una descripción más detallada de los organismos *Proteus* deben consultarse las revisiones de Rettger y Newell (1912), Bengtson (1919) y Dunlap y Maitland (1932).

Weil y Félix (1917) estudiaron el tipo móvil, invasivo y la variante inmóvil de *P. vulgaris*. Estos autores introdujeron el término H (*Hauch* = cutícula) y O (*Ohne Hauch* = sin cutícula), para designar las formas móviles de las inmóviles. Desde entonces H se ha usado como sinónimo de antígeno flagelar y O como de antígeno somático. Estos términos también se utilizan para designar el tipo de aglutinación: la aglutinación H es el agrupamiento de los organismos en masas grandes, blandas y flojas semejando "copos de nieve"; la aglutinación O es el tipo de agrupamiento granular fino, "en granizo".

Weil y Félix (1916) aislaron cepas de *Proteus vulgaris* de pacientes con tifus y descubrieron que los sueros de tales enfermos aglutinaban las cepas de *Proteus* designadas X19 y X2. Como el antígeno reaccionante se localizó en el cuerpo del organismo bacteriano, las cepas inmóviles OX19 y OX2 son las usadas generalmente como antígenos aglutinantes. El bacilo *Proteus* no es la causa del tifus. La aglutinación cruzada parece depender de la presencia de un polisacárido álcaliestable que está también presente en *Rickettsia prowazekii* (White, 1933; Castañeda, 1935). La aglutinación de estas cepas particulares por los sueros de pacientes con *rickettsiosis* se conoce como *reacción de Weil-Felix.*

La cepa OX19 es aglutinada por los sueros de pacientes convalecientes de tifus epidémico y endémico y de fiebre pintada, pero no por los de enfermos infectados con otras *rickettsias*. Otra cepa de *Proteus*, la OXK, aislada en 1923 por Kingsbury, da reacciones específicas con sueros de pacientes convalecientes de *tifus rural de Malaya*.

Proteus morganii (Winslow y col.) Rauss. Este organismo fué aislado por Morgan en 1906 de pacientes que sufrían diarrea de verano. Generalmente produce una diarrea que se parece a la disentería por *Shigella*, pero puede causar fiebre de tipo *Salmonella* (Havens y Mayfield, 1930). Rauss (1936) encontró que uno de los antígenos H en *P. morganii* es similar a uno de los antígenos H de *P. vulgaris* y que algunas cépas móviles producen la colonia de tipo enjambre característica de las cepas de *Proteus*.

Proteus morganii se parece a los organismos del grupo *Salmonella* en que produce ácido y gas con glucosa y maltosa. No fermenta la lactosa ni la sacarosa. *No licua* la gelatina, pero produce *indol*.

Organismo	Glucosa	Lactosa	Maltosa	Sacarosa	Indol	Rojo metilo	Voges-Proskauer	Citrato	Gelatina
E. coli	AG	AG	AG	±	+	+	—	—	—
E. freundii	AG	AG	AG	±	±	+	—	+	—
A. aerogenes	AG	AG	AG	±	±	—	+	+	—
A. cloacae	AG	AG	AG	AG	—	—	+	+	+
Proteus vulgaris	AG	—	AG	AG	+		—		+
Proteus morganii	AG	—		—	+		—		—

AG = Acido y gas; + = positiva; — = negativa; ± = variable.

BIBLIOGRAFIA

Atkinson, N. *Med. J. Aust.*, 1945, 2:368.
Barnes, L. A., and Wight, C. E. *J. Exper. M.*, 1935, 62:281.
Bengston, I. A. *J. Infect. Dis.*, 1919, 24:428.
Buchner. *Arch. f. Hyg.*, 1885, 3.
Burkholder, P. R., and McVeigh, I. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, 1942, 28:285.
Castañeda, M. R. *J. Exper. M.*, 1935, 62:289.
Christensen, W. B. *J. Bacteriol.*, 1946, 52:461.
Clark, W. M. *J. Biol. Chem.*, 1915, 22:87.
Colwell, C. A. *J. Bacteriol.*, 1946, 52:417.
Cushing and Livingood. *Contrib. sc. med.... pupils* W. H. Welch, Balt., 1900.
Davison, W. C. *South. Med. J.*, 1924, 17:552.
——— *Am. J. Dis. Child.*, 1925, 29:743.
——— *Am. J. Dis. Child.*, 1935, 49:72.
Dubin, I. N., and Kerby, G. P. *Arch. Path.*, 1943, 35:808.
Dudgeon, L. S. *J. Hyg.*, 1923-24, 22:348.
Dulaney, A. D., and Michelson, I. D. *Am. J. Pub. Health*, 1935, 25:1241.
Dunlap, E. M., and Maitland, H. E. *J. Hyg.*, 1932, 32:282.
Edwards, P. R., West, M. G., and Bruner, D. W. *J. Inf. Dis.*, 1947, 81:19.
Eijkman, C. *Centralbl. f. Bakteriol*, I Abt., 1904, 37:742.
Elrod, R. P. *J. Bacteriol.*, 1946, 52:405.
Escherich. *Die Darmbakteriologie des Säuglings, Stuttgart*, 1886.
——— *Centralbl. f. Bakteriol.*, 1887, 1.
Gant, O. K., Ransome, B., McCoy, E., and Elvehjem, C. A. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1942, 52:276.
Hauser, G. *Über Faulnissbakterien*, Leipzig, 1885.
Havens, L. C., and Mayfield, C. R. *J. Prevent. M.*, 1930, 4:179.
Hershey, A. D., and Bronfenbrenner, J. *J. Bacteriol.*, 1936, 31:453.
Hill, J. H., Seidman, L. R., Stadnichenko, A. M. S., and Ellis, M. G. *J. Bacteriol.*, 1929, 17:205.
Hinshaw, W. R., and McNeil, E. *J. Bacteriol.*, 1947, 53:715.
Jones, H. N. *Science*, 1924, 60:455; *J. Bacteriol.*, 1926, 11:359.
Jordan, E. O. Spec. Rep. Mass. State Board of Health, 1890.
——— *Food Poisoning and Food-Borne Infection*, Chicago, 1931, p. 140.
Jordon, E. O., and Burrows, W. *Textbook of Bact.*, 14th ed., W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1945.
Kauffmann, F. *J. Immunol.*, 1947, 57:71.
Knox, R., Gell, P. G. H., and Pollock, M. R. *J. Hyg.*, 1943, 43:147.
Koser, S. A. *J. Bacteriol.*, 1924, 9:59.
——— *J. Infect. Dis.*, 1918, 23:377; 1926, 38:506.
Lewis, I. M. *J. Bacteriol.*, 1934, 28:619.
Lovell, R. *J. Path. & Bacteriol.*, 1937, 44:125.
Massini, R. *Arch. f. Hyg.*, 1907, 61:250.
Mitchell, N. B., and Levine, M. *J. Bacteriol.*, 1938, 36:587.
Neisser, M. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt. Ref., Beiheft, 1906, 38:98.
Nyberg, C., Bonsdorff, K., and Kauppi, K. *Centralbl. f. Bakt.* (Abt. I), 1937, 139:13.
O'Meara, R. A. Q. *J. Pathol. & Bacteriol.*, 1931, 34:401.
——— *Brit. J. Exper. Pathol.*, 1931, 12:346.
Parr, L. W. *Am. J. Pub. Health*, 1936, 26:39.
——— *Bacteriol. Rev.*, 1939, 3:1.
——— and Simpson, W. F. *J. Bacteriol.*, 1940, 40:467.
——— and Robbins, M. L. *J. Bacteriol.*, 1942, 43:661.
Perch, B. *Acta Path. et. Microb. Scand.*, 1944, 21:239.
Powers, M. J., Levine, M., and McCleskey, C. S. *J. Bacteriol.*, 1938, 36:295.
Rauss, K. F. *J. Path. & Bacteriol.*, 1936, 42:183.
Reed, G. B. *J. Bacteriol.*, 1937, 34:255.
Rettger, L. F., and Newell, C. R. *J. Biol. Chem.*, 1912, 13:341.
Schaub, I. G. *J. Lab. & Clin. M.*, 1946, 31:958.
Sevitt, S. *J. Hyg.*, 1945, 44:37.
Smith, T. *J. Exper. M.*, 1928, 48:351.
Stamp and Stone, D. M. *J. Hyg.*, 1944, 43:266.
Stuart, C. A., Griffin, A. M., and Baker, M. E. *J. Bacteriol.*, 1938, 36:391.
———, Wheeler, K. M., Rustigian, R., and Zimmerman, A. *J. Bacteriol.*, 1943, 45:101.
Tittsler, R. P. *J. Bacteriol.*, 1933, 25:41.
Toft, G. *Acta Path. et Microb. Scand.*, 1946, 23:277.
Topley and Wilson. *Principles of Bacteriology & Immunity*, 3rd ed., Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1946.
Wallick, H., and Stuart, C. A. *J. Bacteriol.*, 1943, 45:121.

WEIL, E., and FELIX, A. *Wien. klin. Wchnschr.*, 1916, 29:33; 1917, 30:1509.
WEST, M. G., EDWARDS, P. R., and BRUNER, D. W. *J. Infect. Dis.*, 1947, 81:24.
WHITE, P. B. *Brit. J. Exper. Path.*, 1933, 14:145.
WILSON, W. J. *J. Hyg.*, 1933, 33:404.
ZAMENHOF, S. *J. Bacteriol.*, 1946, 51:351.

CAPITULO XXXII

SALMONELAS Y SALMONELOSIS

Familia: *Enterobacteriaceae* Rahn. Grupo: *Salmonelleae* Bergey, Breed y Murray. Género: *Salmonella* Lignières. Especie tipo: *Salmonella choleraesuis* (Smith) Weldin

Los miembros del grupo *Salmonella* ocasionan gran variedad de síntomas clínicos en el hombre. Tales síntomas pueden ser solamente los de una gastroenteritis leve, pero con mayor frecuencia son los típicos de tipo explosivo de la intoxicación alimenticia. Menos frecuentemente, el cuadro clínico es el de una septicemia o enfermedad tífica. En una serie reciente de 2 000 casos, que incluía todos los tipos clínicos, la mortalidad total fué de 5,1 por 100. En pacientes con infección por *S. choleraesuis* la mortalidad fué del 26 por 100 (Seligmann y col., 1946).

El estudio arriba citado no incluye los casos causados por el bacilo tífico, o *Salmonella typhosa* según se le clasifica en la actualidad. Durante siglos, *S. typhosa* fué una de las principales causas de enfermedad y muerte, y la fiebre tifoidea obscureció completamente en importancia a las paratifoideas o infecciones por *Salmonella*. En años recientes, sin embargo, ha sido dominada por métodos de ingeniería sanitaria y programas de inmunización activa, mientras que las enfermedades producidas por las otras 150 especies del grupo *Salmonella* han llegado a ser proporcionalmente más frecuentes.

En 1885, Salmon y Smith aislaron el primer miembro de este grupo de organismos, *S. choleraesuis*, de casos de cólera de los cerdos. Ahora se sabe que el cólera de los cerdos es causado por un virus y que el bacilo sólo era un invasor secundario. En 1888, algunas personas en Alemania presentaron un cuadro de intoxicación alimenticia por comer carne contaminada, y Gärtner cultivó *S. enteritidis* del hígado de un paciente que murió durante esta epidemia. En 1892, Löffler aisló *S. typhimurium* de una enfermedad tífica de los ratones. Un nuevo avance en el conocimiento de estos organismos fué la diferenciación de *S. paratyphi A* y *S. paratyphi B* por Schottmüller en 1900.

Algunas especies de *Salmonella* han sido denominadas según el tipo de enfermedad a partir de la cual fueron aisladas: *S. enteritidis*, *S. abortivoequina* y *S. abortusbovis;* otras, según el animal del cual se cultivaron primero: *S. anatis* y *S. meleagridis*. Más tarde, conforme se fueron descubriendo nuevos tipos, fueron designados según el país, Estado o distrito en el que se observaron las infecciones: *S. panama*, *S. virginia* y *S. georgia*. Finalmente se hizo necesario recurrir al uso de nombres de municipios: *S. dublin*, *S. moscow* y *S. urbana*.

Topley y Wilson (1946) creen que es inadecuado considerar como especies los diversos tipos antigénicos de *Salmonella*, mientras que los tipos antigénicos de *Streptococci* se indican simplemente por números. Sin embargo, es esencial establecer la distinción, bien sea por nombres de especie, números o letras, a causa de su valor para el epidemiólogo que intenta descubrir el origen de una epidemia hasta su fuente específica (Borman, Stuart y Wheeler, 1944).

El intestino del hombre y de los animales es el reservorio natural de las diversas especies de *Salmonella*. Unas 60 especies diferentes han sido ya aisladas de pacientes en Estados Unidos. *Salmonella paratyphi A*, *S. paratyphi B* y *S. paratyphi C* son patógenos primarios para el hombre, pero pueden producir también enfermedad en los animales. *S. typhimurium*, ampliamente distribuido por todo el reino animal, puede ser albergado por el hombre y los animales y es, estadísticamente, la causa más frecuente de la intoxicación alimenticia humana de tipo *Salmonella*.

S. dublin se encuentra primitivamente en caballos, *S. abortusovis* en ovejas, *S. choleraesuis* en cerdos, *S. pullorum* y *S. gallinarum* en aves de corral. Diferentes especies de *Salmonella* han sido aislados de huevos en polvo existentes en el comercio (Gibbons y Moore, 1944; Schneider, 1945).

Seligmann y sus colaboradores (1946) encontraron muchos hombres sanòs, portadores de *Salmonella*, entre los manipuladores de alimentos, enfermeras y asistentes de hospitales; no hay duda de que el hombre queda expuesto periódicamente a los organismos *Salmonella*, tanto de fuente humana como animal (Edwards y Bruner, 1943; Seligmann, 1946).

Morfología y tinción. Los bacilos del grupo *Salmonella* son bacilos cortos, gruesos, de 0,4 a 0,6 μ de ancho y 1 a 3 μ de largo, si bien en los cultivos viejos se pueden ver filamentos cortos. Todas las especies, excepto *S. pullorum* y *S. gallinarum*, son activamente *móviles*. *No son esporulados* y, con algunas excepciones, *no tienen cápsula*. Las cápsulas se presentan en la fase M de variación; se han observado algunas cepas inmóviles con antígenos flagelares específicos (Edwards y col., 1946). Algunas cepas son algo móviles mientras que otras, que parecen ser inmóviles al examen microscópico directo, se ha comprobado que son móviles, como lo demuestra su capacidad para emigrar a través de un medio semisólido. Se pueden obtener organismos activamente móviles a partir de cultivos de movilidad lenta, utilizando un tubo en U que contenga agar semisólido. Un brazo del tubo en U se siembra con el cultivo original y los subcultivos de organismos móviles se hacen a partir del desarrollo que aparece en el brazo no sembrado.

Los organismos *Salmonella* se tiñen fácilmente con los colorantes usuales de anilina y son *gramnegativos*.

Caracteres de cultivo. Estos organismos intestinales se cultivan fácilmente en medios simples, con pH de 6,8 a 7,8 y a temperaturas de 20° a 40° C. El desarrollo máximo tiene lugar a 37° C. Los organismos son *aerobios o anaerobios facultativos*. La mayor parte de las especies se desarrollan en un medio sintético que contenga sales amoniacales o asparagina como fuente de nitrógeno, y glucosa como fuente de carbono.

Algunas cepas, sin embargo, requieren suplementos de leucina, cistina, tiamina o biotina (Lederberg, 1947).

Aislar bacilos patógenos gramnegativos a partir de las heces es problema mucho más difícil que lograr su identificación final. Se han hecho adelantos en la preparación de diversos medios a los cuales se incorporan substancias inhibidoras, colorantes y carbohidratos. En general, se usan tres tipos de medios: 1) un *medio de enriquecimiento*, que contiene substancias estimulantes del desarrollo de los elementos patógenos e inhibidores de los no patógenos; 2) un *medio selectivo*, medio sólido con lactosa como azúcar diferencial, un indicador para producir cambios de color cuando el pH de una colonia se hace ácido por fermentar la lactosa y un inhibidor de los organismos grampositivos y de los que fermentan la lactosa, y 3) un *medio diferencial* parecido al medio selectivo, excepto en que se suprime el inhibidor. La siembra en un medio diferencial, a partir de una colonia del medio selectivo, que

no fermenta la lactosa, permite que el observador elimine los pocos colibacilos que puedan estar mezclados con los patógenos, pero que fueron incapaces de desarrollarse y hacer fermentar la lactosa por el inhibidor contenido en el medio.

La *selenita-F (B.B.L.)* es probablemente el mejor medio de enriquecimiento para el trabajo corriente, pero algunos investigadores prefieren el *caldo de tetrationato* para aislar *Salmonella* de los portadores (Galton y Quan, 1944). Una buena porción de las heces deben emulsionarse completamente en el medio de enriquecimiento. La orina y el material obtenido por drenaje de la vesícula biliar deben también sembrarse primero en un medio de enriquecimiento e incubarse por 24 horas antes de sembrar en uno o más de los medios selectivos.

Estudios comparativos efectuados durante la segunda Guerra Mundial hacen pensar que probablemente el *agar-sulfito de bismuto* sea el mejor medio selectivo para *S. typhosa*; el *agar Shigella-Salmonella (Difco), agar-citrato desoxicolato (B.B.L.)*, y el *agar verde brillante de Kauffmann*, para las salmonelas; y *eosina-azul de metileno*, o una de sus modificaciones, para el grupo *Shigella* y algunas de las cepas más delicadas de *Salmonella*.

Todos los tipos de patógenos entéricos pueden desarrollarse en cualquiera de estos medios (Felsenfeld y Young, 1947).

Las muestras recientes de casos agudos de infecciones entéricas suelen sembrarse directamente sobre placas de dos o más de los medios selectivos. Las heces de casos crónicos y portadores sospechosos deben sembrarse primero en caldo de enriquecimiento, después en placa.

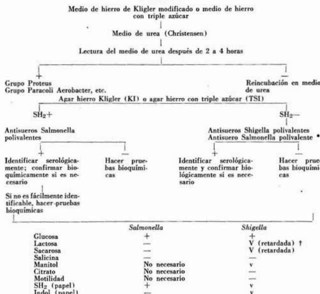
Las colonias de los no fermentadores de la lactosa que aparecen en el medio selectivo pueden ser de *Salmonella*, de *Shigella* o de cepas de *E. coli* fermentadoras lentas de la lactosa, organismos paracoli o especies de *Proteus*. En algunos laboratorios las colonias sospechosas son resembradas en medios diferenciales antes de ser transferidas a tubos inclinados de doble o triple azúcar.

Las colonias aisladas se siembran en el *medio de doble azúcar de Russell, medio de Krumwiede, agar-hierro de Kligler (Difco)* o *medio de hierro triple azucarado de Hajna (B.B.L.)* (Hajna, 1945; Ewing y Bruner, 1947). Estos medios se disponen en tubos preparados con poca inclinación; se siembran por estría en la superficie y por picadura en profundidad.

Después de 12 a 18 horas de incubación a 37° C. los cultivos deben ser desechados si presentan ácido y gas en profundidad y ácido sobre la superficie. *Alcaligenes faecalis*, que no fermenta ninguno de los carbohidratos, suele producir tal alcalinidad que el cambio de color sobre la superficie del medio puede ser tan intensa que dé una falsa impresión de producción de ácido en profundidad. *Pseudomonas aeruginosa* y especies afines producen también un aumento de la alcalinidad sobre la superficie inclinada, pero tienen un olor aromático característico y habitualmente producen coloración purpúrea del medio como resultado de la formación de pigmento.

Los tubos que muestran la producción típica de ácido en profundidad, con gas o sin él, y reacción neutra en la superficie inclinada deben ser trasplantados a *medio de urea de Christensen* (1946), para eliminar *Proteus* y organismos paracoli intermedios. Dos a cuatro horas después se hace una lectura preliminar y los tubos negativos son vueltos a la incubadora por 48 horas. Después del período de incubación inicial de 4 horas debe llevarse a cabo con los cultivos negativos a la ureasa una prueba serológica preliminar por el método de la placa, usando un antisuero *Salmonella* o *Shigella* polivalente. La técnica empleada en la identificación final se indica en el esquema que sigue.

Esquema del procedimiento para identificar cultivos de salmonelas y shigelas



	Salmonella	*Shigella*
Glucosa	+	+
Lactosa	—	V (retardada) †
Sacarosa	—	V (retardada)
Salicina	—	—
Manitol	No necesario	v
Citrato	No necesario	—
Motilidad	No necesario	—
SH_2 (papel)	+	v
Indol (papel)	—	v

* En ocasiones los cultivos de *Salmonella* pueden fracasar en producir SH_2 en medio de Kligler. También ciertas *Shigellae* y *Salmonellae* tienen aglutinación cruzada, hecho que facilita su reconocimiento (véase texto).
† Indica reacción positiva, urea, hidrólisis, producción de SH_2, utilización de carbohidratos o aglutinación en antisueros: —, no hay reacción; v, los resultados varían según los cultivos; y V, que si hay una reacción, suele tardar 48 horas o más.

(Ewing, W. H., y Bruner, D. W., *Am. J. Clin. Path.*, 1947, 17:1.)

Después de un desarrollo de 24 horas sobre medios de agar simple, las salmonelas producen colonias relativamente grandes con un diámetro medio de 2 a 3 mm. Algunas veces se producen colonias en forma de hoja de vid, que originalmente se creyeron características del bacilo tífico. Otras colonias son de forma circular u oval, planas, convexas, con superficie lisa y borde íntegro; algunas son más aplanadas, con superficie más irregular y bordes dentados.

Con excepción de *S. typhosa* y *S. sendai*, las salmonelas producen, de manera característica, *ácido* y *gas con glucosa* y *maltosa*, pero *no fermentan la lactosa, la salicina ni la sacarosa*. Producen *sulfuro de hidrógeno*, pero *no indol* y *no licuan la gelatina*. Se deben observar algunas excepciones a estos datos generales: *S. eastbourne* y algunas cepas de *S. panama* y *S. enteritidis* producen indol; *S. dar-es-salaam* licua la gelatina y algunas cepas ocasionales de *S. paratyphi A*, *S. enteritidis*,

S. typhimurium y *S. paratyphi C*, fermentan los carbohidratos sin producción de gas. *Salmonella berta*, *S. senftenberg* variedad Newcastle y *S. choleraesuis* del tipo americano producen poco o nada de sulfhídrico, mientras que *S. paratyphi A* es variable en la producción de SH_2.

FRECUENCIA DE LOS TIPOS DE SALMONELAS DE ORIGEN HUMANO EN ESTADOS UNIDOS

TIPOS	GRUPO	NOMBRE ANTIGUO	PORCENTAJE DE CULTIVOS EN LOS CUALES SE AISLÓ
S. typhimurium	B	*B. pestis cavae* *S. aertrycke* Bacilo de Breslau	30-35
S. paratyphi B	B	*B. paratyphosus B* *S. schottmuelleri* Bacilo paratífico B	20
S. typhosa	D	*B. typhosus* *E. typhosa* Bacilo tífico	10-15
S. montevideo	C-1		
S. oranienburg	C-1		
S. choleraesuis	C-1	*B. suipestifer* *S. suipestifer* Bacilo del cólera de los cerdos	5-10
S. newport	C-2		
S. derby	B		
S. bareilly	C-1		
S. enteritidis	D	*B. enteritidis* Bacilo de Gaertner	10-15
S. panama	D		
S. give	E-1		
S. anatum	E-1		
S. senftenberg	E-3		

(Tabla preparada con datos de Oscar Felsenfeld, *Am. J. Clin. Path.*, 1945, 15:584.)

Resistencia. Las salmonelas en la leche y productos lácteos son destruídas por pasteurización; el agua contaminada se puede hacer innocua por ebullición o cloración. Los organismos son moderadamente susceptibles a los antisépticos usuales pero algo más resistentes que los colibacilos a la acción de ciertos colorantes y otras substancias. Las propiedades inhibidoras diferenciales de estas substancias son utilizadas incorporándolas a los diversos medios de aislamiento (pág. 419).

Las *sulfonamidas* y la *penicilina* son ineficaces en las concentraciones que se alcanzan en terapéutica. La *estreptomicina* inhibe el desarrollo *in vitro* de las salmonelas en concentraciones que varían de 3 a 60 microgramos por c.c. de cultivo líquido.

Variabilidad. Además de los tipos usuales de variación S a R, hay un tipo más complejo de variación que será estudiado en la sección de análisis antigénico.

Las cepas recién aisladas de salmonelas suelen encontrarse en fase S. A fuerza de cultivos ocurre un cambio gradual a la forma R, acompañado por pérdida paulatina de los antígenos O específicos, que pueden desaparecer por completo. Generalmente, en cultivos R, los organismos conservan su motilidad y los antígenos flagelares específicos, pero algunas veces la variación tiene por resultado la pérdida

de los antígenos flagelares H, con retención de los antígenos somáticos O. Las formas R aglutinan espontáneamente en solución salina fisiológica y en acriflavina al 1:500 (Pampana, 1933). En pacientes con infecciones crónicas se aislan a veces formas R. Con el desarrollo de la colonia de forma R aparece un polisacárido característico de todas las especies de *Salmonella*. Este polisacárido R desaparece con una nueva variación, caracterizada por la aparición de formas P (White, 1932). En medio que contiene almidón soluble, un cultivo que produce parcialmente colonias rugosas se convierte en otro que produce colonias S típicas (Crossley y col., 1946).

Algunas salmonelas, principalmente *S. paratyphi B*, desarrollan grandes colonias mucoides (M) cuando se incuban a 37° C. durante 24 horas y se dejan a la temperatura de la habitación durante varios días. En estas formas M aparece una substancia que por análisis antigénico no es específica, ya que se produce un polisacárido idéntico por diversas especies de *Salmonella* (Birch-Hirschfeld, 1935; Morgan y Beckwith, 1939). Este tipo de variación es frecuente, por ejemplo, con las cepas recién aisladas, *d*-tartrato-negativas, de *S. paratyphi B;* rara vez se observa en cultivos de *S. typhimurium* (Kauffmann, 1941).

Se han descrito colonias G pequeñas, de 0,2 a 0,3 mm de diámetro (Mellon y Jost, 1926; Morris, Barnes y Sellers, 1943; Millet y col., 1946).

Metabolitos bacterianos. Los organismos del grupo *Salmonella* contienen potentes *endotoxinas*, pero *no producen exotoxinas*. Los filtrados de cultivos viejos, cuando se inyectan intravenosamente a conejos, producen profunda postración, hiperglucemia seguida de hipoglucemia y muerte en 24 a 36 horas. La mucosa intestinal se encuentra hinchada, hemorrágica y, en ocasiones, necrótica; ello hace suponer que la toxina se excreta por la mucosa.

Diversos investigadores han aislado polisacáridos no tóxicos. Algunas salmonelas, sin embargo, contienen glucolípidos altamente tóxicos que, al parecer, están relacionados con los antígenos O específicos. Las moléculas intactas de estos fosfátido-polisacáridos o complejos nucleótidos, son tóxicas y antigénicas pero se pueden hacer relativamente innocuas si se escinden en sus componentes polisacárido y fosfátido por medios químicos (Boivin y Mesrobeanu, 1935-38).

Estructura antigénica. Los miembros del grupo *Salmonella* se clasifican en especies por el análisis de sus estructuras antigénicas. Como la mayor parte de las salmonelas son móviles, se dispone tanto de los antígenos O como de los H flagelares para su diferenciación. Cuando se inyecta intravenosamente a los conejos organismos flagelados muertos con formol, se forman anticuerpos específicos para cada uno de los diversos antígenos O y H.

Los antígenos H se encuentran no solamente en los flagelos sino también en una delgada capa que envuelve todo el bacilo (pág. 22). En consecuencia, la exposición de organismos flagelados a un suero que contenga ambos anticuerpos, O y H, da lugar a una aglutinación que se efectúa solamente por los últimos anticuerpos, puesto que los anticuerpos O son incapaces de sensibilizar a los antígenos O. Los flagelos se endurecen, y el agrupamiento característico de los organismos en flóculos laxos, groseros, se llama aglutinación de tipo H (pág. 185). Si los antígenos flagelares se destruyen por exposición de los organismos al alcohol o a un ácido débil, los anticuerpos O reaccionan con los antígenos somáticos liberados, para producir una aglutinación fina de tipo granular llamada aglutinación de tipo O (pág. 186). Los antígenos flagelares o son más eficaces para estimular la producción de anticuerpos, o se descubren más fácilmente, puesto que los sueros producidos por inyección de organismos flagelados frecuentemente tienen títulos H de 1:20 000 a 1:50 000, mientras que los títulos de O sólo son de 1:1 000 a 1:2 000.

Las salmonelas se dividen en grandes grupos según sus principales antígenos somáticos; estos grupos se subdividen en especies según los tipos antigénicos de sus flagelos. Por lo tanto, son necesarios sueros puros O y H para identificar las numerosas especies de salmonelas.

En la preparación de antígenos, las salmonelas que contienen los antígenos propios se cultivan en un medio de agar al cual se ha añadido 0,1 por ciento de fenol, ya que éste suprime completa pero temporalmente el desarrollo de los antígenos flagelares. También se puede preparar el antígeno O por tratamiento del cultivo de 18 a 24 horas en agar inclinado con 1 a 2 c.c. de alcohol absoluto, calentamiento de 60° C. durante una hora, centrifugación y nueva suspensión del sedimento en 0,5 a 1 c.c. de solución salina fisiológica. La mayor parte de las salmonelas contienen dos o más antígenos somáticos específicos, que se designan por los números romanos I a XXX.

El análisis antigénico de los antígenos flagelares es de técnica más compleja. Algunas salmonelas sólo tienen un grupo de antígenos flagelares; de aquí que estas especies sean llamadas *monofásicas*. La mayor parte de las salmonelas, sin embargo, tienen dos grupos de antígenos flagelares; se dice, por tanto, que son *difásicas*. En los organismos difásicos un grupo de antígenos flagelares, o "fase 1", es más o menos específico para la salmonela particular; el otro grupo, o "fase 2", es mucho menos específico y con frecuencia se halla también en otras especies de salmonelas y aun en otros organismos del grupo entérico.

Los dos grupos de antígenos flagelares no existen mezclados en el mismo organismo, de modo que si un cultivo difásico se siembra en placa y se llevan a cabo aglutinaciones por separado con organismos de colonias aisladas, alrededor de la mitad de las colonias presentarán aglutinación con el antisuero específico fase 2. Si se hacen subcultivos con colonias en fase específica de uno u otro tipo, tienen lugar en una o dos generaciones una reversión a una mezcla de fase 1 y fase 2. Se pueden obtener cultivos en fase 1 o en fase 2 más estables, para ser utilizados en la producción de antisueros específicos, por siembra de un cultivo difásico en un brazo de un tubo en U que contenga agar semisólido y antisuero de una u otra fase específica y subcultivando el organismo en la otra fase desde el brazo no sembrado del tubo.

Los antígenos flagelares en fase 1 fueron designados con letras minúsculas, a, b, c, etc., hasta que su número excedió del alfabeto y hubieron de ser designados con z con sufijo; es decir, z_2, z_{20}, etc. Los antígenos en fase 2 se designaron primero por los numerales 1, 2, 3, etc., pero pronto se descubrió que muchos organismos en fase 2 tenían también antígenos e y n, especialmente junto con x o uno de la serie z con sufijo. Se han encontrado algunas salmonelas en las cuales los organismos en fase 2 no contienen ni la serie 1, 2, 3, ni la e, n, etc., sino antígenos característicos de organismos en fase 1. Variaciones adicionales han sido descritas por Kauffmann y Mitsui (1930), Edwards y Bruner (1938) y Bruner y Edwards (1947).

Cepas recién aisladas de *S. typhosa*, *S. paratyphi C*, *S. ballerup* y *S. hormaechei* poseen con frecuencia un antígeno llamado Vi que es exterior con relación a los antígenos O y, por tanto, protege a los organismos de la acción aglutinante de los antisueros O. El antígeno Vi se destruye fácilmente por calentamiento del organismo durante una hora a 100° C.; también se pierde gradualmente por subcultivos en medios ordinarios. Esta pérdida progresiva se puede seguir desde las colonias V. con antígeno Vi bien desarrollado, pasando por las colonias VW, con poco antígeno, hasta la forma W que no lo contiene. El antígeno Vi provoca la formación de un anticuerpo específico, de gran utilidad para diagnosticar la presencia del

germen. Aunque todos los antígenos Vi parecen idénticos por análisis antigénico, hay diferencias sutiles que se pueden reconocer por la acción del bacteriófago (Craigie, 1942). Así, *S. paratyphi B* posee un antígeno Vi o un similar que permite su subdivisión en tipos por las acciones específicas de los bacteriófagos (Félix y Callow, 1943).

La complejidad antigénica del grupo de organismos *Salmonella* no debe alarmar al estudiante. Kauffmann y Edwards (1947) han descrito un método simplificado para clasificar las salmonelas, que se puede usar para identificar, por lo menos, el 95 por ciento de las cepas encontradas comúnmente en clínica o en los laboratorios de sanidad pública. Las pocas que no se pueden identificar deben ser enviadas a un centro de clasificación de salmonelas. Los centros más activos son el Instituto Serológico del Estado, de Copenhague, Dinamarca; el Instituto de Higiene de Montevideo, Uruguay; The National Salmonella Center of the Agricultural Experimental Station, de Lexington, Ky.; el Hospital Beth Israel en Nueva York, N. Y.; The Bureau of Laboratories of the Board of Health of Connecticut, de Hartford, Conn.; The Division of Veterinary Science of the University of California, de Davis, en California.

La siguiente tabla muestra la fórmula antigénica para todas las especies de *Salmonella* reconocidas hasta diciembre de 1947. Durante los últimos años no ha pasado un mes sin que se describiese por lo menos una nueva especie. Debe observarse que sólo se han incluido en las tablas los antígenos esenciales para la clasificación de las especies respectivas.

Las reacciones entre los organismos de los diversos grupos han sido estudiadas por Seligmann (1945) y Saphra y Wassermann (1945). Este último encontró que el antisuero O preparado contra *S. onderstepoort* (I, VI, XIV y XXV) y el antisuero preparado contra *S. carrau* (VI, XIV y XXIV) aglutinaba otras diez especies de *Salmonella* y una cepa de cada uno de *E. coli*, *Sh. paradysenteriae* y *Proteus*, aunque en muchos casos tales reacciones cruzadas no se podían explicar por la existencia de un componente antigénico somático conocido. Según la teoría de White, de una evolución divergente, los autores consideran estas dos especies de salmonelas como las más antiguas; según la hipótesis de una evolución convergente deben clasificarse como las más recientes.

En el esquema de Ewing y Bruner de la técnica a seguir para lograr el diagnóstico (1947) se propuso que los bacilos gramnegativos que daban reacción negativa de urea, y positiva de SH_2 deben probarse con suero de *Salmonella* polivalente (pág. 440). Como el 95 por ciento de las especies de *Salmonella* aisladas del hombre en EE. UU. pertenecen a una de las 14 especies presentadas en la tabla de la página 432 (Felsenfeld, 1945), las identificaciones completas pueden lograrse con unos pocos sueros.

ESQUEMA DE KAUFFMANN Y WHITE (1946)

Tipos antigénicos		Fórmula antigénica		
Grupo	Especie	Antígenos somáticos	Antígenos flagelares: Fase 1	Antígenos flagelares: Fase 2
A	*S. paratyphi A*	I, II, XII	a	—
B	*S. arechavaleta*	IV, V, XII	a	1, 7
	S. bispebjerg	I, IV, XII	a	e, n, x
	S. abortivoequina	IV, XII	—	e, n, x
	S. paratyphi B	I, IV, V, XII	b	1, 2
	S. abony	I, IV, V, XII	b	e, n, x
	S. abortusbovis	I, IV, XXVII, XII	b	e, n, x
	S. schleissheim	IV, XXVII, XII	b, z_{12}	—

ESQUEMA DE KAUFFMANN Y WHITE (1946) *(Continuación)*

TIPOS ANTIGÉNICOS		FÓRMULA ANTIGÉNICA		
			ANTÍGENOS FLAGELARES	
GRUPO	ESPECIE	ANTÍGENOS SOMÁTICOS	FASE 1	FASE 2
B	*S. abortusovis* *S. altendorf*	IV, XII IV, XII	c c	1, 6 1, 7
	S. stanley *S. schwarzengrund*	IV, V, XII I, IV, XXVII, XII	d d	1, 2 1, 7
	S. salinatis	IV, XII	d, e, h	d, e, n, z_{15}
	S. zagreb *S. saint paul* *S. reading* *S. kaposar* *S. kaapstad* *S. chester* *S. san diego*	IV, V, XII I, IV, V, XII IV, XII IV, V, XII IV, XII IV, V, XII IV, V, XII	e, h e, h e, h e, (h) e, h e, h e, h	1, 2 1, 2, 3 1, 5 1, 5 1, 7 e, n, x e, n, z_{15}
	S. derby *S. essen* *S. california* *S. budapest*	I, IV, XII IV, XII IV, XII I, IV, XII	f, g g, m g, m, t g, t	— — — —
	S. typhimurium	I, IV, V, XII	i	1, 2, 3
	S. bredeney *S. brandenburg*	I, IV, XXVII, XII IV, XII	l, v l, v	1, 7 e, n, z_{15}
	S. heidelberg	IV, V, XII	r	1, 2, 3
	S. coeln	IV, V, XII	y	1, 2, 3
C	*S. oslo*	VI, VII	a	e, n, x
	S. georgia	VI, VII	b	e, n, z_{15}
	S. paratyphi C	VI, VII, Vi	c	1, 5
	S. choleraesuis *S. typhisuis*	VI, VII VI, VII	c c	1, 5 1, 5
	S. amersfoort	VI, VII	d	e, n, x
	S. braenderup	VI, VII	e, h	e, n, z_{15}
	S. montevideo	VI, VII	g, m, s	—
	S. thompson *S. daytona*	VI, VII VI, VII	k k	1, 5 ó 1, 10 1, 6
	S. concord *S. potsdam*	VI, VII VI, VII	l, v l, v	1, 2, 3 e, n, z_{15}
	S. oranienburg	VI, VII	m, t	—

Esquema de Kauffmann y White (1946) *(Continuación)*

Tipos antigénicos		Fórmula antigénica		
			Antígenos flagelares	
Grupo	Especie	Antígenos somáticos	Fase 1	Fase 2
C	*S. virchow*	VI, VII	r	1, 2, 3
	S. infantis	VI, VII	r	1, 5
	S. papuana	VI, VII	r	e, n, z_{15}
	S. richmond	VI, VII	y	1, 2, 3
	S. bareilly	VI, VII	y	1, 5
	S. hartford	VI, VII	y	e, n, x
	S. mikawasima	VI, VII	y	e, n, z_{15}
	S. tennessee	VI, VII	z_{29}	—
	S. narashino	VI, VIII	a	e, n, x
	S. gatuni	VI, VIII	b	e, n, x
	S. muenchen	VI, VIII	d	1, 2
	S. oregon	VI, VIII	d	1, 2, 3
	S. manhattan	VI, VIII	d	1, 5
	S. pueris	VI, VIII	e, h	1, 2
	S. newport	VI, VIII	e, h	1, 2, 3
	S. kottbus	VI, VIII	e, h	1, 5
	S. bonariensis	VI, VIII	i	e, n, x
	S. litchfield	VI, VIII	l, v	1, 2, 3
	S. bovis morbificans	VI, VIII	r	1, 5
	S. duesseldorf	VI, VIII	z_4, z_{24}	—
	S. tallahassee	VI, VIII	z_4, z_{32}	—
	S. glostrup	VI, VIII	z_{10}	e, n, z_{15}
	S. virginia	(VIII)	d	—
	S. kentucky	(VIII), XX	i	z_6
	S. amherstiana	(VIII)	l, (v)	1, 6
D	*S. sendai*	I, IX, XII	a	1, 5
	S. miami	I, IX, XII	a	1, 5
	S. loma-linda	IX, XII	a	e, n, x
	S. durban	IX, XII	a	e, n, z_{15}
	S. onarimon	I, IX, XII	b	1, 2
	S. typhosa	IX, XII, Vi	d	—
	S. eastbourne	I, IX, XII	e, h	1, 5
	S. berta	IX, XII	f, g, t	—
	S. enteritidis	I, IX, XII	g, m	—
	S. blegdam	IX, XII	g, m, q	—

ESQUEMA DE KAUFFMANN Y WHITE (1946) *(Continuación)*

TIPOS ANTIGÉNICOS		FÓRMULA ANTIGÉNICA		
			ANTÍGENOS FLAGELARES	
GRUPO	ESPECIE	ANTÍGENOS SOMÁTICOS	FASE 1	FASE 2
D	*S. pensacola* *S. dublin* *S. rostock* *S. moscow*	IX, XII I, IX, XII I, IX, XII IX, XII	g, m, t g, p g, p, u g, q	— — — —
	S. claibornei	I, IX, XII	k	1, 5
	S. panama	I, IX, XII	l, v	1, 5 ó 1, 11
	S. goettingen *S. dar es salaam* *S. napoli* *S. javiana*	IX, XII I, IX, XII I, IX, XII I, IX, XII	l, v l, w l, z_{13} l, z_{28}	e, n, z_{15} e, n e, n, x 1, 5
	S. canastel	IX, XII	z_{29}	1, 5
	S. gallinarum	I, IX, XII	—	—
E	*S. shangani*	III, X	d	1, 5
	S. vejle	III, X	e, h	1, 2, 3
	S. muenster *S. anatum* *S. nyborg* *S. meleagridis*	III, X III, X III, X III, X	e, h e, h e, h e, h	1, 5 1, 6 1, 7 l, w
	S. zanzibar	III, X	k	1, 5
	S. london *S. give* *S. uganda*	III, X III, X III, X	l, v l, v l, z_{13}	1, 6 1, 7 1, 5
	S. weltevreden	III, X	r	z_6
	S. amager *S. orion*	III, X III, X	y y	1, 2, 3 1, 5
	S. lexington	III, X	z_{10}	1, 5
	S. newington *S. selandia*	III, XV III, XV	e, h e, h	1, 6 1, 7
	S. new brunswick	III, XV	l, v	1, 7
	S. illinois	(III), (XV)	z_{10}	1, 5
	S. niloese	I, III, XIX	d	z_6
	S. senftenberg	I, III, XIX	g, s, t	z_{27}
	S. taksony	I, III, XIX	i	z_6

Esquema de Kauffmann y White (1946) *(Conclusión)*

Tipos antigénicos		Fórmula antigénica		
			Antígenos flagelares	
Grupo	Especie	Antígenos somáticos	Fase 1	Fase 2
F	*S. marseille*	XI	a	1, 5
	S. luciana	XI	a	e, n, z_{15}
	S. aberdeen	XI	i	1, 2, 3
	S. veneziana	XI	i	e, n, x
	S. pretoria	XI	k	1, 2, 3
	S. senegal	XI	r	1, 5
	S. rubislaw	XI	r	e, n, x
	S. solt	XI	y	1, 5
G	*S. mississippi*	I, XIII, XXIII	b	1, 5
	S. grumpensis	XIII, XXIII	d	1, 7
	S. wichita	I, XIII, XXIII	d	—
	S. havana	I, XIII, XXIII	f, g	—
	S. borbeck	XIII, XXII	l, v	1, 6
	S. worthington	I, XIII, XXIII	l, w	z
	S. poona	XIII, XXII	z	1, 6
	S. cubana	I, XIII, XXIII	z_{29}	—
H	*S. heves*	VI, XIV, XXIV	d	1, 5
	S. florida	(I), VI, XIV, XXV	d	1, 7
	S. onderstepoort	(I), VI, XIV, XXV	e, (h)	1, 5
	S. carrau	(I), VI, XIV, XXIV	y	1, 7
	S. madelia	(I), VI, XIV, XXV	y	1, 7
	S. sundsvall	(I), VI, XIV, XXV	z	e, n, x
I	*S. hvittingfoss*	XVI	b	e, n, x
	S. gaminara	XVI	d	1, 7
	S. szentes	XVI	k	1, 2, 3
	S. orientalis	XVI	k	e, n, z_{15}
Grupos adicionales	*S. kirkee*	XVII	b	1, 2
	S. cerro	XVIII	z_4, z_{23}	—
	S. minnesota	XXI	b	e, n, x
	S. pomona	XXVIII	y	1, 7
	S. tel-aviv	XXVIII	y	e, n, z_{15}
	S. urbana	XXX	b	e, n, x
	S. adelaide	XXXV	f, g	—
	S. inverness	XXXVIII	k	1, 6
	S. champaign	XXXIX	k	1, 5
Nuevos tipos	*S. texas*	IV, V, XII	k	e, n, z_{15}
	S. norwich	VI, VII	e, h	1, 6
	S. singapore	VI, VII	k	e, n, x
	S. shoreditch	IX, XII	r	e, n, z_{15}
	S. butantan	III, X	b	1, 5
	S. cambridge	III, XV	e, h	1, w
	S. horsham	(I), VI, XIV, XXV	l, v	e, n, x
	S. monschaui	XXXV	m, t	—

( ) = Solamente una parte del antígeno presente.
(Subcomité Internacional para las Salmonelas, *Acta Path. et Microb. Scand.*, 1947, 24:242.)

Se puede preparar un antisuero *Salmonella* O polivalente inyectando un solo conejo con cantidades iguales de cultivos en caldo, hervidos, de *S. paratyphi A*, *S. paratyphi B*, *S. thompson*, *S. newport*, *S. gallinarum*, *S. anatum* y *S. newington*. Del 97 al 99 por ciento de todos los organismos cultivados del hombre o animales aglutinarán con este suero polivalente (Kauffmann y Edwards, 1947; Ewing y Bruner, 1947). También se puede obtener un suero polivalente haciendo una mezcla de sueros específicos en las proporciones adecuadas (Seligmann, 1945). Los antisueros específicos O para identificación de los grupos A y E deben prepararse inyectando conejos con los organismos registrados en la tabla siguiente.

ANTÍGENOS ESPECÍFICOS DE GRUPO DE KAUFFMANN Y EDWARDS

GRUPO	ORGANISMO	ANTÍGENOS O
A	*S. paratyphi A*	I, II, XII
B	*S. paratyphi B*	IV, V, XII
C	*S. thompson* y *S. newport*	VI, VII, VIII
D	*S. gallinarum*	IX, XII
E	*S. anatum* y *S. newington*	III, X, XV

(Según Kauffmann, F., y Edwards, P. R., *J. Lab. & Clin. Med.*, 1947, 32:548.)

Para hallar el antígeno Vi de *S. typhosa* y *S. paratyphi C* debe inyectarse a un conejo un cultivo vivo o tratado con alcohol de *S. ballerup* (Edwards y Bruner, 1942). El suero resultante contiene aglutininas para el antígeno O XXIX y el antígeno H z_{14}, además del antígeno Vi, pero la presencia de estos antígenos es tan rara que se puede usar el suero sin absorción para determinación del antígeno Vi.

Los sueros para diferenciar las diversas salmonelas dentro de los grupos pueden prepararse en conejos según se indica en la tabla siguiente. Los organismos flagelados en desarrollo activo que contienen antígenos flagelares específicos de la fase correspondiente, son suspendidos en solución salina fisiológica, muertos con formol e inyectados a conejos (Edwards y Bruner, 1942).

ANTÍGENOS FLAGELARES ESPECÍFICOS DE KAUFFMANN Y EDWARDS

NÚMERO	ORGANISMO	FASE	ANTÍGENOS FLAGELARES
1	*S. paratyphi A*		a
2	*S. hvittingfoss* o *S. paratyphi B*	1	b
3	*S. choleraesuis*	1	c
4	*S. typhosa*		d
5	*S. aberdeen* o *S. bonariensis*	1	i
6	*S. thompson* y *S. newport*	2	1, 2, 3, 5
7	*S. abortivoequina*	2	e, n, x
8	*S. dublin*	2	g, p

(Según Kauffmann, F., y Edwards, P. R., *J. Lab. & Clin. Med.*, 1947, 32:548.)

Los sueros numerados del 1 al 6 se usan para identificar los organismos aislados del hombre; los numerados 3, 5, 7 y 8, para cepas de origen animal.

Los organismos de las colonias de un medio selectivo o diferencial se pueden emulsionar directamente en una dilución al 1:5 ó 1:10 del antisuero *Salmonella* O polivalente. Si no hay aglutinación, debe examinarse otra porción de la misma colonia para determinar la presencia del antígeno Vi, probándola con un antisuero Vi. Los cultivos que contienen antígeno Vi deben calentarse a 100° C. durante unos minutos para destruir el antígeno Vi; entonces pueden ser vueltos a probar con los diversos antisueros O. Un cultivo que aglutina con ambos antisueros, polivalente O y Vi, probablemente no es *S. typhosa*.

Después de la prueba preliminar con antisuero O polivalente y antisuero Vi, los cultivos deben ser diferenciados en cuanto a su contenido de antígeno O por aglutinación con los diversos antisueros O. Aunque a veces se observan aglutinaciones cruzadas, la altura del título suele establecer sin dificultad el grupo específico.

Los cultivos que dan la reacción bioquímica usual de las salmonelas, pero que no aglutinan en alguno de los antisueros O, son raros; pueden representar nuevas especies que deben ser enviadas a una estación clasificadora de salmonelas para su identificación final. Los organismos que aglutinan en el antisuero Vi y, después del calentamiento, no son aglutinados por el antisuero O polivalente, contienen, con toda probabilidad, el antígeno XXIX relativamente raro. Debe recordarse, sin embargo, que un cultivo R de *S. typhosa* que, en estado vivo, es aglutinado por el antisuero Vi, se hará inaglutinable en sueros anti-O, grupo C, grupo D y Vi después de tratado por el calor.

Después que se haya determinado el grupo O debe investigarse el antígeno H. Esto debe efectuarse por la técnica de aglutinación en porta, usando organismos de un cultivo en medio inclinado, emulsionados directamente en dilución al 1:50 ó 1:100 de cada uno de los antisueros H específicos, o por el método en tubo de ensayo recomendado por Edwards y Bruner (1943). En la última técnica, se diluye un cultivo en caldo con igual cantidad de solución salina fisiológica que contiene 0,6 por ciento de formol. Se añade al antígeno el antisuero específico diluido al 1:1 000 y se incuba a 50° C. durante una hora.

Aunque *S. paratyphi A* es la única salmonela del grupo A, la identificación debe ser confirmada demostrando la presencia del antígeno flagelar a.

La diferenciación de las especies del grupo B es más difícil. Se dispone una prueba preliminar con los antisueros b, i y 1, 2, 3, 5. *S. paratyphi B* aglutinará en el suero anti-b y *S. typhimurium* en el suero anti-i. Cuando, recién aislados, algunos cultivos difásicos se presentan en una sola fase; si ésta es la 2, la aglutinación ocurrirá con el antisuero 1, 2, 3, 5, pero los organismos deben ser aislados en fase 1 para que pueda hacerse la identificación completa. Esto se logra por siembra del cultivo en una placa de Gard que contiene el suero 1, 2, 3, 5 (Kauffmann, 1941) o en un tubo en U de agar semisólido al cual se haya añadido un asa del suero. Los organismos en fase 2 se inmovilizan y los de fase 1 se pueden aislar del desarrollo que difunde (Edwards y Bruner, 1942; Hajna, 1944; Juenker, 1946). Después de haber aislado la fase 1 puede identificarse el organismo como *S. paratyphi, B, S. typhimurium* u otro miembro del grupo B. *S. paratyphi B* ha sido diferenciado en subtipos por clasificación con el bacteriófago (Félix y Callow, 1943).

Los cultivos del grupo C se prueban con los sueros anti-c y anti-1, 2, 3, 5. Los organismos que aglutinan con suero anti-c son *S. paratyphi C* o *S. choleraesuis*, los cuales se pueden diferenciar por reacciones bioquímicas. *S. paratyphi C* fermenta rápidamente la *trehalosa* y la *dulcita* y, por lo general, la *arabinosa*. *S. choleraesuis* fermenta, lentamente, si acaso, la dulcita y no fermenta la trehalosa, ni la arabinosa. Si los organismos están en fase 2, como lo indicaría la aglutinación con suero anti-1, 2, 3, 5, debe aislarse la fase 1 por el método descrito en el párrafo precedente. Debe tenerse en cuenta que la mayor parte de los cultivos de *S. choleraesuis* pertenecen a la variedad Kunzendorf, en la cual la fase 1 está más o menos completamente suprimida; de aquí que los cultivos que aglutinan en suero 1, 2, 3, 5 no fermenten la trehalosa y dan reacciones negativas o tardías en la dulcita, casi con certeza son *S. choleraesuis*.

Los cultivos del grupo D se prueban con sueros anti-a, d y 1, 2, 3, 5. Los cultivos que solamente aglutinan en un suero anti-d puro y dan las reacciones bioquímicas características de *S. typhosa* no necesitan mayor estudio supuesto que, por investigación preliminar, haya quedado establecida la presencia o ausencia del antígeno Vi. Algún cultivo recién aislado de *S. typhosa*

tiene, en ocasiones, los antígenos flagelares pobremente desarrollados y puede no flocular en antisuero d. Tales cultivos se deben considerar como *S. typhosa* si poseen los antígenos IX, XII y Vi y dan las reacciones de fermentación características de *S. typhosa*.

S. sendai es raro en Estados Unidos pero se encuentra con frecuencia en el Oriente. Es difásico y ambas fases se pueden demostrar por aglutinación en sueros anti-a y anti-1, 2, 3, 5. Cuando solamente se presenta en una fase, la otra debe ser aislada por el método antes descrito. El análisis antigénico debe ser suplementado por reacciones bioquímicas, ya que hay otros organismos *Salmonella*, raros, con antígenos similares pero con reacciones de fermentación diferentes. *S. sendai* da una reacción negativa en el caldo-fucsina glicerinado de Stern; no utiliza el ácido cítrico ni produce SH_2. Fermenta pronto la *arabinosa* y la *xilosa*, y la *sorbita* con lentitud.

REACCIONES BIOQUÍMICAS DE ESPECIES DE SALMONELLA

ORGANISMO	GLUCOSA	LACTOSA	XILOSA	TREHALOSA	ARABINOSA	DULCITA	SH_2
S. typhosa	A	—	V	A	V	X	V
S. paratyphi A	AG	—	—	AG	AG	AG A(1)	V
S. paratyphi B	AG	—	AG	AG	AG	AG	+
S. paratyphi C	AG	—	AG	AG	AG	AG	+
S. typhimurium	AG	—	V	V	AG	AG	+
S. choleraesuis	AG	—	AG	—	—	X	X
S. abortivoequina	AG	—	AG	AG	AG	AG	—
S. abortussuis	AG	—	V	—	X	V	X
S. enteritidis	AG	—	AG	AG	AG	AG	+
S. dublin	AG	—	V	AG	V	AG	+
S. sendai	A	—	A(1)	A	A	X	—
S. pullorum	AG	—	AG	AG	AG	—	+
S. gallinarum	A	—	A(1)	A	A	A	V

A = ácido; AG = ácido y gas; A(1) = positiva después de 4-8 días; V = variable; X = tarde, irregular o negativo.

Los cultivos del grupo E no se separan en especies en el laboratorio clínico.

Con ciertas excepciones, los cultivos de origen animal se analizan de la misma manera que los aislados del hombre. La identificación de *S. typhimurium* y *S. choleraesuis* se ha descrito arriba. Las cepas animales pertenecientes al grupo B se prueban con sueros anti-c, e, n, x, anti-i y anti-1, 2, 3, 5. *S. abortivoequina* sólo aglutina con suero e, n, x y como es monofásica, no se extiende cuando se siembra en medios semisólidos que contengan suero anti-e, n, x. *S. abortusovis* produce un desarrollo algo delicado en agar y no fermenta la *trehalosa*. Es difásico y aglutinará en ambos sueros, anti-c y anti-1, 2, 3, 5.

Los organismos inmóviles que aglutinan en los sueros grupo D son, probablemente, *S. gallinarum* o *S. pullorum*. *S. gallinarum* fermenta rápidamente la *dulcita* y la *maltosa*. *S. pullorum*

se caracteriza por un desarrollo más bien ralo sobre medios artificiales y alguna irregularidad en las reacciones bioquímicas. *No fermenta la dulcita*, pero algunas cepas fermentan la maltosa y en ocasiones producen gas en glucosa y maltosa.

Las cepas móviles del grupo D, *S. dublin* y *S. enteritidis* aglutinan con suero anti-g, p. *S. enteritidis* fermenta rápidamente la *arabinosa*, mientras que *S. dublin* da prueba negativa o tardía con este carbohidrato.

Diagnóstico serológico. Como resultado de la infección por salmonelas el paciente forma cuerpos de inmunidad específica; el diagnóstico de las fiebres tifoidea y paratífica suele hacerse por la aglutinación de microorganismos conocidos con el suero del paciente. Sin embargo, en casos de enteritis aguda y de intoxicación alimenticia, el paciente ya se encuentra bien antes que los anticuerpos aparezcan en el suero.

La vieja técnica habitual de aglutinación con *S. typhosa*, *S. paratyphi A* y *S. paratyphi B*, es inadecuada en vista de la estructura antigénica compleja de los organismos del grupo *Salmonella*. Para las pruebas de aglutinación sistemáticas con sueros de pacientes sospechosos de tener infecciones por salmonelas, Bornstein (1942) propone el uso de tres antígenos O y cuatro antígenos H.

ANTÍGENOS PARA EL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE SALMONELOSIS EN EL HOMBRE

ORGANISMO	TRATAMIEMTO	ANTÍGENOS O	ANTÍGENOS H
S. derby	Suspensión alcohólica	IV, XII	
S. oranienburg	" "	VI, VII	
S. enteritidis	" "	IX, XII	
S. urbana	Suspensión formolada		b
S. kentucky	" "		i
S. muenchen	" "		d
S. newport var. Puerto Rico	" "		1, 2, 3

(Según Felsenfeld, O., *Am. J. Clin. Path.*, 1945, 15:584.)

En pacientes con infecciones por salmonelas aparece *alergia* del tipo tuberculínico para la proteína somática (Morris e Irons, 1946).

Enfermedad espontánea en los animales. En muchos animales se producen enteritis aguda y crónica, así como enfermedades tifóidicas y septicémicas por diversas especies de *Salmonella*. *S. typhimurium* y *S. enteritidis* dan lugar a epidemias en colonias de ratones y ratas silvestres y domésticos; muchos de los animales supervivientes se hacen portadores crónicos. Epidemias similares, pero menos explosivas, ocurren en los cobayos.

El aborto infeccioso de las yeguas está causado por *S. abortivoequina*; *S. abortusovis* ha sido aislada de las ovejas. Las terneras son particularmente susceptibles a la infección con *S. dublin*. *S. typhisuis* parece ser específica para los cerdos y *S. choleraesuis*, si bien no es la causa del cólera de estos animales, produce una enfermedad grave en el ganado porcino sin la asistencia del virus.

Las aves se infectan frecuentemente con salmonelas. *S. gallinarum* causa tifoidea en las aves de corral y *S. pullorum* produce la diarrea blanca en los pollos. *S. typhi-*

murium causa una enfermedad epidémica en los canarios; *S. anatis* y *S. newington* en patitos; *S. oranienburg* en las crías de codorniz y en pollos; y *S. senftenberg* en los pavos jóvenes.

Enfermedad experimental en animales. Al parecer, todos los organismos del grupo *Salmonella* poseen endotoxinas que son capaces de producir la muerte típica endotóxica en conejos cuando se les inyecta intravenosamente gran número de microorganismos vivos o muertos. Algunas salmonelas son más tóxicas que otras, pero sólo algunas de las muchas especies han sido estudiadas en detalle.

S. choleraesuis produce septicemia con abscesos metastáticos cuando se inyecta intravenosamente al conejo cierto número pequeño de organismos vivos.

S. typhimurium ha sido utilizado para producir epidemias experimentales en ratones. La introducción de un único portador sano inicia pronto una enfermedad epidémica típica, con morbilidad y mortalidad elevadas. La epidemia alcanza un máximo, declina lentamente y deja un resto de animales inmunes sanos, animales con enteritis crónica y algunos portadores aparentemente sanos (Topley y col., 1931; Webster, 1930).

Tipos clínicos de infección en el hombre. El síndrome de la intoxicación alimenticia es la manifestación clínica más común de infección por salmonelas. El comienzo de los síntomas puede ser repentino y violento como en el cólera. En la literatura antigua, este tipo de infección aguda era llamado "cholera nostra". Con excepción de *S. typhosa*, todas las salmonelas pueden causar intoxicación alimenticia, si bien las infecciones con *S. typhimurium, S. paratyphi B, S. choleraesuis* y *S. enteritidis* son las más comunes. En 6 a 12 horas se produce endotoxina suficiente para causar los síntomas, por el rápido desarrollo de los organismos en el intestino. El restablecimiento suele ser completo en dos a cuatro días.

La intoxicación alimenticia por salmonelas debe diferenciarse de las causadas: 1) por las enterotoxinas de los micrococos (Cap. XVIII); 2) por las exotoxinas de *Cl. botulinum* (Cap. XLIII). Las últimas toxinas están preformadas en el alimento ingerido.

Un segundo tipo clínico de salmonelosis es una enteritis que aparece algo más lentamente pero persiste por más tiempo. Los pacientes con este tipo de infección tienen fiebre, ulceraciones superficiales del intestino, con moco y pus en las deyecciones y síntomas que simulan los de la disentería. Este tipo de infección es el dominante en los niños pequeños y adultos o viejos debilitados. La mayor parte de las muertes por salmonelosis ocurren en estos dos grupos de pacientes.

Las infecciones más graves causadas por salmonelas son las de los tipos *tifóidico* y *septicémico*. El paciente puede tener una enfermedad febril, sin síntomas gastrointestinales, que dura semanas y no puede ser diferenciada clínicamente de la fiebre tifoidea. El tipo septicémico es más peligroso; produce escalofríos diarios y una curva de temperatura en agujas. La mortalidad con este tipo de infección puede ser tan alta como el 25 por ciento. El tipo tifóidico está producido con la mayor frecuencia por *S. paratyphi A, S. paratyphi B, S. paratyphi C, S. sendai* o *S. typhimurium*.

S. choleraesuis se encuentra con mayor frecuencia en el tipo septicémico de infección por salmonelas. En el período septicémico pueden aparecer lesiones focales en diversas partes del cuerpo, produciendo *osteomielitis* (Krauss, 1947), *endocarditis, neumonía* y *abscesos pulmonares* (Minor y White, 1946) y *meningitis* (Schiff y Saphra, 1941).

Debe subrayarse que los tres tipos clínicos de salmonelosis pueden ser causados por cualquier salmonela; en casos raros de enfermedad progresa desde la fase de intoxicación alimenticia a la enterítica y, finalmente, a los tipos tifóidico y septicémico

Transmisión. Es muy difícil erradicar la salmonelosis por estar tan ampliamente distribuídos en la naturaleza los organismos de tipo *Salmonella*. El agua de bebida, la de los lagos, ríos y piscinas de natación, puede ser contaminada por los animales o por el hombre. Carnes, aves y huevos pueden estar infectados antes de llegar a la cocina (Felsenfeld, 1945). En años recientes, los huevos en polvo (Gibbons y Moore, 1944; Schneider, 1945) han llegado a ser una fuente importante de salmonelosis, particularmente por su uso frecuente en el aderezo de postres sin el calentamiento suficiente para destruir los organismos.

Las ratas y ratones, que con frecuencia llevan salmonelas en sus heces y orina, son peligrosas fuentes de infección; pueden contaminar los alimentos lo mismo antes que después de haber sido preparados para la mesa.

Quizá la fuente más común de salmonelosis es el portador humano, quien contamina el alimento durante su preparación o después de su cocción. Los aliños aceitosos, rellenos de pasteles y pastas son apropiados para la transmisión de microorganismos desde el portador a la víctima. Con los métodos mejorados de cultivo se puede demostrar que son portadores de salmonelas del 2 al 5 por ciento de los individuos aparentemente sanos (Rubenstein y col., 1944; Seligmann y col., 1946). *S. choleraesuis* ha sido aislada solamente una vez de un portador, pero los otros tipos, en particular *S. paratyphi B*, se encuentra con frecuencia en los cultivos corrientes.

Productos biológicos. No hay sueros antibacterianos específicos para uso terapéutico. Sin embargo, la vacuna antitífica suele contener *S. paratyphi A* y *S. paratyphi B* muertos, además de *S. typhosa*.

Tratamiento. El tratamiento es fisiológico. Si la naturaleza no ha eliminado completamente el alimento infectado, está indicado un purgante salino. Cuando el paciente es un niño o un anciano lo más importante es restaurar el equilibrio de líquidos y electrólitos.

Tanto las sulfonamidas como la estreptomicina han fracasado en el tratamiento de los tipos tifóidico y septicémico de la infección. Los bacilos gramnegativos, incluyendo las salmonelas, pueden ser temporalmente eliminados del tubo gastrointestinal de los niños por administración oral de estreptomicina; pero los organismos *Salmonella* vuelven cuando se interrumpe la administración del antibiótico. Seligmann y colaboradores (1947) aconsejan su uso en niños con enteritis graves. El suero antibiótico *polimixina* quizá sea más eficaz que la estreptomicina (Stansly y colaboradores, 1947).*

Prevención. La leche y el agua de bebida contaminadas constituyeron originalmente las principales causas de infecciones intestinales epidémicas, pero estas fuentes han sido eliminadas casi por completo por la moderna ingeniería sanitaria.

Todas las carnes, incluyendo la de aves, y los huevos, como tales o en polvo, deben ser considerados como fuentes potenciales de infección; antes de ser servidos como alimento deben ser calentados a temperaturas bastante altas para matar las salmonelas.

El descubrimiento y eliminación de los portadores entre los manipuladores de alimentos es una de las actividades principales en las unidades de sanidad pública bien organizadas.

La vacunación con las 150 especies de salmonelas, para lograr inmunidad activa, no es práctica. La inmunización activa con un corto número de especies no sería imposible y quizá los análisis antigénicos más modernos permitirán obtener vacunas polivalentes que ofrecerán protección contra la mayor parte de las infecciones por salmonelas o contra todas.

* Véase nota de la página 456 sobre antibióticos. (N. del T.)

BIBLIOGRAFIA

Birch-Hirschfeld, L. *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr.*, 1935, 117:626.
Boivin, A., and Mesrobeanu, L. *Rev. Immunol.*, 1935, 1:553.
Boivin, A. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1938, 61:426.
——— and Mesrobeanu, L. *Compt. Rend. Acad. des Sci.*, 1938, 206:1416.
Borman, E. K., Stuart, C. A., and Wheeler, K. M. *J. Bacteriol.*, 1944, 48:351.
Bornstein, S. *New York State J. Med.*, 1942, 42:2215.
Bruner, D. W., and Edwards, P. K. *J. Bacteriol.*, 1947, 53:359.
Christensen, W. B. *J. Bacteriol.*, 1946, 52:461.
Craigie, J. *Canad. J. Pub. Health*, 1942, 33:41.
Crossley, V. M., Ferguson, M., and Brydson, L. *J. Bacteriol.*, 1946, 52:367.
Edwards, P. R., and Bruner, D. W. *J. Hyg.*, 1938, 38:716.
——— and Bruner, D. W. *Ky. Agric. Exper. Sta. Circular*, 1942, 54.
——— and Bruner, D. W. *J. Infect. Dis.*, 1943, 72:58.
———, Moran, A. B., and Bruner, D. W. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1946, 62:296.
Ewing, W. H., and Bruner, D. W. *Am. J. Clin. Path.*, 1947, 17:1.
——— *J. Bacteriol.*, 1947, 53:362.
Félix, A., and Callow, B. R. *Brit. Med. J.*, 1943, 2:127.
Felsenfeld, O. *Am. J. Clin. Path.*, 1945, 15:584.
——— and Young, V. M. *Am. J. Clin. Path.*, 1947, 17:13.
Galton, M. M., and Quan, M. S. *Am. J. Pub. Health*, 1944, 34:1071.
Gärtner. *Korresp. Bl. ärztl. ver Thüringen.*, 1888, 17:233, 573.
Gibbons, N. E., and Moore, R. L. *Canad. J. Res.*, 1944, 22:48.
Hajna, A. A. *J. Bacteriol.*, 1944, 48:609.
——— *J. Bacteriol.*, 1945, 49:516.
Juenker, A. P. *J. Bacteriol.*, 1946, 52:609.
Kauffmann, F., and Mitsui, C. *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr.*, 1930, 111:749.
——— *Die Bakteriologie der Salmonella Gruppe.* Copenhagen: Einar Munksgaard, 1941. Ann Arbor, Edward Brothers, 1945.
——— and Edwards, P. R. *J. Lab. & Clin. M.*, 1947, 32:548.
Krauss, R. F. *J. Bone & Joint Surg.*, 1947, 29:227.
Lederberg, J. *Arch. Biochem.*, 1947, 18:287.
Löffler, F. *Zbl. f. Bakteriol.*, 1892, 11:129.
Mellon, R. R., and Jost, E. L. *J. Immunol.*, 1926, 12:331.
Millet, M., Bolle, A., and Hirsche, A. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1946, 72:44.
Minor, G. R., and White, M. L., Jr. *Ann. Int. Med.*, 1946, 24:27.
Morgan, H. R., and Beckwith, T. D. *J. Bacteriol.*, 1939, 37:389.
Morris, J. F., Barnes, C. G., and Sellers, T. F. *Am. J. Pub. Health*, 1943, 33:246.
Morris, J. S., and Irons, M. G. *Va. Med. Monthly*, 1946, 73:324.
Pampana, E. J. *J. Hyg.*, 1933, 33:402.
Rubenstein, A. D., Feemster, R. F., and Smith, H. M. *Am. J. Pub. Health*, 1944, 34:841.
Salmon, D. E. *Science*, 1884, 3:155.
——— *Am. Vet. Rev.*, 1883-4, 7:546.
——— and Smith, T. *Rep. Com. Agric.*, Washington, 1885, 1886.
Saphra, I., and Wassermann, M. *J. Immunol.*, 1945, 50:221.
Schiff, F., and Saphra, I. *J. Infect. Dis.*, 1941, 68:125.
Schneider, M. D. *Bull. U. S. Army Med. Dept.*, 1945, 4:477.
Schottmüller, H. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1900, 511.
——— *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, 1901, 36:368.
Seligmann, E. *J. Immunol.*, 1945, 50:191.
——— Saphra, I., and Wassermann, M. *J. Immunol.*, 1946, 54:69.
——— Barash, L., and Cohlan, S. Q. *J. Pediat.*, 1947, 30:182.
Stansly, P. G., Shepherd, R. G., and White, H. J. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1947, 81:43.
Stahl, W. H., Pennell, R. B., and Huddleson, I. F. *Tech. Bull. Mich. Agric. Exper. Sta.*, 1939, Nº 168.
Topley, W. W. C., Greenwood, M., and Wilson, J. *J. Path. & Bacteriol.*, 1931, 24:523.
Topley, W. W. C., and Wilson, J. *Principles of Bacteriology and Immunity*, 3rd ed., Williams & Wilkins, Baltimore, 1946.
Webster, L. T. *J. Exper. M.*, 1930, 52:901, 909, 931.
White, P. B. Med. Research Council Spec. Rep. Ser., Nº 103, London, 1926.
——— *A System of Bacteriology in Relation to Medicine*, London, 1929, 4:86.
——— *J. Path. & Bacteriol.*, 1932, 35:77.

CAPITULO XXXIII

SALMONELLA TYPHOSA Y FIEBRE TIFOIDEA

Familia: *Enterobacteriaceae* Rahn. Grupo: *Salmonelleae* Bergey, Breed y Murray. Género: *Salmonella* Lignières. Especie: *Salmonella typhosa* (Zopf) White

SALMONELLA TYPHOSA Y FIEBRE TIFOIDEA

La lucha contra la fiebre tifoidea ha logrado quizá el mayor triunfo de la Medicina preventiva organizada. Hace poco tiempo, en 1900, la proporción anual de muertes por fiebre tifoidea en Estados Unidos era mayor de 30 por 100 000; en el año 1944 había disminuído a 0,4 por 100 000, o sea, una reducción del 99 por ciento.

Ni un solo caso de muerte por fiebre tifoidea se registró en el año 1945 en 56 de las más importantes ciudades. El problema no está, sin embargo, enteramente resuelto, puesto que en el mismo año se registraron en Estados del Centro y Sur cifras de mortalidad de 4,8 a 5,4 por 100 000 (*J.A.M.A.*, 1946). Hay aún suficientes portadores en la población para causar epidemias explosivas si la sociedad llegase a desorganizarse o los departamentos de sanidad pública no actuasen, como sucedió en Europa Central al terminar la segunda Guerra Mundial.

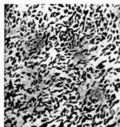


FIG. 90. SALMONELLA TYPHOSA.

De un cultivo en agar de 24 horas; véase la regularidad de las formas.

En 1856, Budd, por observaciones clínicas perspicaces, llegó a la conclusión de que la fiebre tifoidea era una enfermedad infecciosa transmisible de paciente a paciente. El bacilo tífico fué visto por primera vez por Eberth, en 1880, en el bazo y ganglios mesentéricos de un enfermo muerto de tifoidea y fué aislado por Gaffky en 1884. La fiebre tifoidea no se puede reproducir en los animales, pero numerosas infecciones de laboratorio con cultivos puros han servido para establecer el papel patógeno de este organismo para el hombre.

El bacilo tífico es un miembro altamente especializado del género *Salmonella;* el hombre es el único huésped. El *portador*, particularmente el desconocido, sirve como fuente primaria de nuevas infecciones que continuarán ocurriendo hasta que el último portador haya desaparecido.

El bacilo de la fiebre tifoidea ha tenido muchos nombres: *Bacillus typhosus, Bacillus typhi abdominalis, Salmonella typhi, Eberthella typhosa.*

Finalmente, en la sexta edición del *Manual* de Bergey (1948) ha sido vuelto a nombrar *Salmonella typhosa.* Los estudios antigénicos han demostrado que el bacilo tífico pertenece al género *Salmonella*, pero es importante para el estudiante recordar que *S. typhosa* no produce gas en medios con carbohidratos, lo cual permite en forma práctica y sencilla diferenciarlo de los miembros más comunes del grupo que anteriormente se conocía con el nombre de paratífico.

Morfología y tinción. *S. typhosa* es un bacilo corto y grueso, de 0,5 a 0,8 μ de ancho y 1 a 3,5 μ de longitud (figs. 90, 91). En los cultivos viejos y en las colonias en fase R se ven formas más largas. El organismo es activamente *móvil* (fig. 92), *no esporulado* y *no capsulado*, excepto en la rara fase M de variación. Se tiñe fácilmente con los colorantes usuales de anilina y es *gramnegativo*.



FIG. 91. SALMONELLA TYPHOSA.

Tipo liso, móvil, de cultivo de 12 horas en agar-caldo de carne; véanse las variaciones de forma. × 1200.

Caracteres de cultivo. *Salmonella typhosa* es *aerobio* pero también *anaerobio facultativo*. El bacilo se desarrolla rápidamente en los medios usuales de laboratorio, en límites de pH de 6 a 8, a temperaturas entre 15° a 41° C., con óptimo a 37,5° C. El organismo se desarrolla sobre medios sintéticos que contengan glucosa y sales amónicas, si bien algunas cepas requieren la adición de triptófano. El bacilo tífico se puede aislar directamente de la sangre en agar-caldo de carne ordinario; la bilis facilita su desarrollo y con frecuencia se añade a los medios de infusión.

S. typhosa se presenta en número relativamente escaso en las heces y está íntimamente mezclada con otras numerosas bacterias intestinales; por esto es esencial un medio selectivo. El medio de agar-sulfito de bismuto de Wilson y Blair inhibe de manera efectiva el desarrollo de otros organismos intestinales y sólo tiene ligera acción inhibidora sobre los bacilos tíficos. Por la intensa acción inhibidora sobre los no patógenos, el material fecal puede ser extendido sobre las placas en cantidad relativamente grande. Las colonias subcultivadas directamente de este medio, con frecuencia, no son aglutinadas completamente por el antisuero específico. Durante la segunda Guerra Mundial se usaron con mayor éxito los medios de *citrato-desoxicolato* y *Shigella-Salmonella*. Si no se obtienen cultivos positivos por siembra directa sobre estos medios, debe sembrarse una muestra fecal en un medio de enriquecimiento, como *caldo-selenita F* o *caldo-tetrationato sódico* y volverla a sembrar en un medio selectivo después de incubación de 24 horas. Diversos investigadores han comprobado que el caldo-tetrationato, introducido por Muller (1923), es netamente superior al caldo-selenita F (Wynne y Williams, 1945).

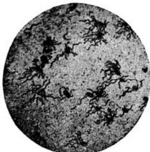


FIG. 92. SALMONELLA TYPHOSA.

Véanse los flagelos. (Según Fränkel y Pfeiffer.)

Después de incubación de 24 horas en medios de desoxicolato-citrato o SS, *S. typhosa* aparece en colonias pequeñas, incoloras, transparentes, ovales, redondas o en forma de hoja, muy pequeñas, más delicadas y transparentes que las colonias de colibacilos. Sin embargo, no presentan

ninguna característica que permita distinguirlas de las colonias de bacilos del grupo disentérico. Conforme las colonias envejecen se hacen más densas y opacas, y pierden muchos de sus caracteres diferenciales primitivos. En el medio de sulfito de bismuto de Wilson-Blair las colonias de *S. typhosa* son negras.

Los gérmenes que no fermentan la lactosa se transfieren a otros de doble o triple azúcar, como se describe en el capítulo sobre salmonelosis.

S. typhosa produce *ácido sin gas* con *glucosa, maltosa, manita, dextrina* y *trehalosa. No fermentan la lactosa, ni la sacarosa.* Algunas cepas hacen fermentar rápidamente la *xilosa*, otras lentamente o nada. La producción de SH_2 es variable; *no producen indol y no licuan la gelatina.*

Resistencia. *S. typhosa* permanece viva en los cultivos durante meses o aun años si se le suministra humedad. En tubos de agar cuidadosamente cerrados, Hiss (1901) encontró los organismos vivos después de 13 años. Los bacilos permanecen viables en agua telúrica durante dos o tres semanas, pero pueden persistir en las materias fecales de los excusados durante uno o dos meses. Su supervivencia en el hielo y en la nieve, por lo menos durante tres meses (Prudden, 1887), puede explicar algunas de las epidemias originadas por el agua (Beard, 1940) en invierno y primavera.

Los organismos mueren en pocos minutos por una solución de bicloruro de mercurio al 1:500 o de ácido fénico al 5 por ciento. Se destruyen rápidamente en la leche por temperaturas de pasteurización y en el agua por los métodos habituales de cloración.

Las sulfonamidas son ineficaces pero la *penicilina X* inhibe la *S. typhosa* a concentración de 6 unidades y la *penicilina G* a la de 12 unidades por c.c. de cultivo líquido. La *estreptomicina* sólo es moderadamente eficaz *in vitro*, ya que se requieren de 1 a 120 microgramos por c.c. de cultivo líquido para impedir el desarrollo de los organismos. *



FIG. 93. COLONIA RUGOSA DE SALMONELLA TYPHOSA EN AGAR. (Según Grinnell.)

Variabilidad. El tipo clásico de variación S — R fué descrito por Arkwright en 1921. Como las variaciones de los antígenos H y O ocurren independientemente, se pueden encontrar los siguientes tipos: 1) liso, móvil; 2) liso, inmóvil; 3) rugoso, móvil, y 4) rugoso, inmóvil. El poder patógeno depende del antígeno O presente en las colonias lisas. Por lo tanto, los organismos de las colonias rugosas móviles o inmóviles son avirulentos (fig. 93). Las colonias S son de tamaño medio, redondas, con superficie uniforme y forma semiesférica aplanada. Las colonias R son mayores, más aplanadas, con superficie rugosa y bordes irregulares. La clásica colonia en hoja de arce de la figura 94 es, evidentemente, de tipo R.

La fase M de variación se puede producir en cultivos S por desarrollo de los organismos en agar inclinado a 37° C., subcultivando en placas de agar-carne de vaca con 1 por ciento de glucosa e incubando a 16° C. durante cuatro días (Morgan y Beckwith, 1939).

Metabolitos bacterianos. *Salmonella typhosa* no produce *exotoxina*. La *endotoxina* ha sido identificada como un complejo específico proteína-carbohidrato-lípido.

* La *aureomicina* y la *cloromicetina* han resultado de enorme eficacia en el tratamiento de la fiebre tifoidea y de las paratifoideas. (N. del T.)

La fracción polisacárido aislada no es tóxica, pero neutraliza los cuerpos de inmunidad específica producidos por el microorganismo completo (Morgan y Partridge, 1942).

Morgan (1943) comprobó que la endotoxina del bacilo tífico producía, cuando se inyectaba intracutáneamente, edema, eritema y necrosis. Cuando se inyectaba intravenosamente en conejos, el endotelio vascular se alteraba dando lugar a hemorragias petequiales, congestión, trombosis localizada y, finalmente, necrosis en diversos órganos internos, particularmente en el hígado y en la medula ósea. Las alteraciones no diferían de las encontradas en pacientes muertos de fiebre tifoidea.

Estructura antigénica. La fórmula antigénica para *Salmonella typhosa* es IX, XII, (Vi-d); corresponde, pues, al grupo D de *Salmonella.* El hecho de que ambos antígenos O y H sean compartidos por otras especies de *Salmonella*, explica la aglutinación cruzada entre *S. typhosa* y otros organismos paratíficos.

Como en las demás salmonelas, la virulencia del organismo está determinada por la presencia del antígeno O, no del H. Una vez perdido el antígeno O superficial durante las variaciones del tipo S al R, los bacilos ya no son aglutinados por el suero específico anti-O, pero pueden aún ser aglutinados por suero anti-H.



Fig. 94. Colonia superficial de Salmonella typhosa en gelatina. Aspecto clásico de "hoja de arce".

(Según Heim.)

Antígeno Vi. Se sabe desde hace muchos años que los cultivos recién aislados de bacilos tíficos, particularmente los de la sangre, no son aglutinados por el suero específico anti-O después de una serie de pasos en medios artificiales. La explicación de estos fenómenos la suministró el trabajo de Félix y Pitt (1934) quienes demostraron que estos bacilos inaglutinables contenían un antígeno superficial que impedía el contacto entre el antígeno O y el anticuerpo correspondiente.

Los organismos que poseían este antígeno eran más virulentos para los ratones que aquellos que eran aglutinados por el suero anti-O y se introdujo el término Vi para indicar virulencia.

Cuando se inyectan conejos con organismos que poseen este antígeno Vi superficial, se producen anticuerpos Vi específicos que aglutinarán, en título relativamente bajo, solamente los bacilos que contienen el antígeno Vi. Como cabría esperar, este suero anti-Vi protege a los ratones de las infecciones mortales con cepas virulentas que poseen el antígeno Vi. En un tiempo se creyó que la disminución de eficacia de la vacuna tífica preparada de la vieja cepa tipo "Rawlings" se debía a la pérdida completa del antígeno Vi. Sin embargo, Grinnell (1930-31) había demostrado que el defecto importante en la cepa Rawlings era una pérdida parcial de antígenos O específicos. La presencia de antígeno Vi no explica por sí sola la virulencia, ya que se han encontrado cepas no patógenas de colibacilos que poseen este antígeno. Al presente, el ejército de EE. UU. usa una vacuna formulada preparada de la cepa N° 58 que contiene todos los antígenos O somáticos así como el antígeno Vi (Siler, 1941).

Los estudios de Kauffmann en 1935 revelaron que la capacidad de ser aglutinados por suero anti-O los bacilos la adquirían gradualmente. En cultivos repetidos sobre medios de agar simple, se encontraban colonias intermedias con organismos que podían ser aglutinados a bajo título por ambos sueros anti-O y anti-Vi. Las colonias intermedias podían hacerse nuevamente inaglutinables por algunos pasos en ratones, pero las que perdían la capacidad de ser aglutinadas por suero anti-Vi nunca la recuperaban. Kauffmann designó a las cepas con antígeno Vi completo como V; las que no lo poseían, como W, y las cepas intermedias, como VW. Los tres tipos han sido cultivados a partir de pacientes, pero, por fortuna para el diagnóstico, la mayor parte de las cepas recién aisladas contienen el antígeno Vi. En las series de Craigie y Yen (1938) de 706 cepas, 592 eran del tipo V, 72 eran VW y sólo 42 fueron W.

El antígeno Vi es termolábil; es destruído por una temperatura de 60° C. Este antígeno, sin embargo, no se destruye por el calor si los organismos se suspenden en alcohol absoluto, acetona o glicerina (Peluffo, 1941). Aunque disminuye en cantidad, el antígeno Vi no se destruye por el tratamiento con formoldehído. La revisión de Almon (1943) abarca los trabajos sobre antígeno Vi hasta el año 1943.

Clasificación mediante bacteriófagos. Aunque sólo hay un tipo de antígeno Vi que puede ser descubierto por aglutinación, precipitación y protección, existen diferencias sutiles que pueden reconocerse por bacteriófagos específicos (Craigie y Brandon, 1936). Utilizando diversas cepas de bacteriófago el 98,6 por ciento de los 592 cultivos V de Craigie y Yen fueron diferenciados en tipos A, B_1, B_2, C, D_1, D_2, E, F, G, H y J. Se hacen una serie de siembras de las bacterias localizadas en zonas diferentes de una placa de agar; a cada zona se le añade una gota del fago específico. Una lisis confluente sólo tiene lugar en la zona a la cual se ha añadido el fago específico. Félix (1943) encontró nuevas cepas en Inglaterra y añadió fagos tipos D_4, D_5 y L_2 y una cepa no clasificada, Nº 91. Olitzki y colaboradores (1945) publicaron que la mayor parte de las cepas aisladas en Palestina eran de tipo A; Morris y colaboradores (1945) encontraron tipos A, C, E, F, H y J en Georgia (E. U. A.); el 80 por ciento de las cepas pertenecían a los tipos A, E y C. En Sudáfrica, Crocker (1947) aisló y estudió 639 cepas, la mayor parte de las cuales fueron de tipos A, E y B_2; no se encontraron cepas de tipo C. Crocker aisló dos nuevos tipos, designados provisionalmente J. S. y Rhodesia; admite la existencia de tipos adicionales entre sus 144 cepas no clasificadas. En 1942 introdujo Craigie un nuevo método de clasificación.

Es evidente que los tipos específicos de bacteriófago en cultivos V de *S. typhosa* varían grandemente según las localidades y en las diferentes partes del mundo. Nunca se insistirá bastante en la importancia de los trabajos de esta clase porque con frecuencia permiten la identificación y segregación de un portador particular responsable de una epidemia aislada de fiebre tifoidea.

Diagnóstico serológico. Gruber y Durham (1896) demostraron la presencia de aglutininas específicas en la sangre de conejos infectados con bacilos tíficos. La primera aplicación práctica de esta nueva ciencia que es la Inmunología fué la creación, por Grünbaum (1896) y Widal (1896), de una técnica para la medición cuantitativa de aglutininas en los sueros de pacientes con fiebre tifoidea. La prueba consistente en poner el suero de un paciente sospechoso de tifoidea frente a un cultivo conocido de *S. typhosa* se conoce aún en el laboratorio y en clínica como *reacción de Widal*. Suelen emplearse ambos tipos de antígenos O y H, así como el relativamente nuevo antígeno Vi.

Pijper (1938, 41, 43, 47) estudió el tipo de aglutinación O, H y Vi por cinematografía, empleando una técnica original de campo obscuro en la cual utilizaba la luz solar directa como fuente de iluminación. Los anticuerpos Vi producen aumento de

la adhesividad en la superficie de los bacilos que contienen el antígeno Vi y paresia de los flagelos. Los organismos se reúnen y adhieren como los ladrillos de un tabique (fig. 34, pág. 187). Los anticuerpos H producen rigidez y engrosamiento de los flagelos, que acaban entrelazándose en grandes flóculos laxos, característicos de la aglutinación de tipo H (fig. 30, pág. 185). Los bacilos tíficos expuestos a los anticuerpos O permanecen activamente móviles y son aglutinados con dificultad. Finalmente, se reúnen en pequeños grumos granulares por la atracción ejercida a lo largo del eje longitudinal del organismo. Este es el tipo granular fino, típico de la aglutinación O (fig. 33, pág. 186).

Los detalles esenciales del método moderno de Widal se indican al estudiar los métodos inmunológicos.

Los resultados de las reacciones de aglutinación positivas, obtenidas por estos métodos, nos parece que deben ser interpretados como sigue:

1. Para aglutininas O: los títulos significativos son los superiores a 1:50; pocos individuos normales tienen títulos tan altos como 1:50 y rara vez 1:200 o más.
2. Para aglutininas H: títulos de 1:80 o más altos parecen tener cierta significación diagnóstica.
3. Para aglutininas Vi: los títulos son siempre bajos, pero específicos. Una aglutinación Vi positiva es diagnóstica si se sabe que el paciente no es portador crónico de bacilos tíficos.

Es evidente que una reacción de Widal, usando los acostumbrados antígenos tipo H de *S. typhosa*, *S. paratyphi A* y *S. paratyphi B*, puede proporcionar información útil. Debe insistirse en que los resultados de estas pruebas de aglutinación deben ser interpretados solamente por el médico con un conocimiento pleno de la historia del paciente, en especial por lo que se refiere a vacunaciones previas contra la fiebre tifoidea; deben repetirse las pruebas con reactivos valorados para asegurar un índice de elevación o caída del título de aglutininas, y sólo cuando los títulos son altos (O, 1:500, o H, 1:100) puede decirse que el diagnóstico es prácticamente seguro.

También pueden ser demostrados los anticuerpos en el suero de animales o pacientes, por precipitación, fijación del complemento y técnicas de protección. Todas estas pruebas son simplemente métodos diferentes de examen de los anticuerpos sensibilizantes, como se indicó en el Capítulo XV. La reacción de aglutinación es la más simple de efectuar y ha tenido la más amplia aplicación en el diagnóstico.

Enfermedad experimental en los animales de laboratorio. Se ha producido fiebre tifoidea típica en chimpancés por Metchnikoff y Besredka (1911). Grandes dosis de bacilos tíficos vivos o muertos producen la muerte en conejos, cobayos y ratones, en 24 a 48 horas, con cuadro de toxemia que no tiene parecido con la fiebre tifoidea humana. Después de la inyección intravenosa o intraperitoneal de los organismos a un conejo o un cobayo, hay una rápida caída de la temperatura acompañada de disnea y diarrea intensa, a veces sanguinolenta. Con dosis menores la reacción primaria es menos grave, pero va seguida de emaciación intensa y progresiva, que mata al animal o termina en una lenta recuperación.

Zinsser (1907) perfundió el corazón aislado de un cobayo con endotoxinas del bacilo tífico sin lograr efectos observables; en consecuencia, consideró que el veneno no actúa directamente sobre el músculo cardíaco normal.

El material tóxico extraído por Zinsser, Parker y Kuttner (1920) de un cultivo de bacilos tíficos en caldo por 5 a 6 horas, probablemente es uno de los antígenos de Shwartzman (pág. 212).

La inyección intravenosa, en conejos, de pequeñas dosis de bacilos tíficos virulentos produce una bacteremia transitoria, seguida por el establecimiento de un foco de

infección en la vesícula biliar (Welch y Blachstein, 1891; Meyer y col., 1921). Los últimos investigadores comprobaron que los organismos con frecuencia persisten en la vesícula biliar hasta 125 días y a veces reaparecen en la corriente sanguínea entre el séptimo y el noveno día que siguen a la inoculación. Gay y Claypole (1912-13) produjeron con regularidad el estado de portador en el conejo por desarrollo de los cultivos en medios de agar con 10 por ciento de sangre desfibrinada de conejo. Tales cultivos eran casi inaglutinables con el suero de conejo inmune ordinario; así, pues, era probable la presencia de lo que ahora se conoce como antígeno Vi.

Grinnell (1930) encontró que la virulencia de una cepa de bacilos tíficos podía igualarse con la de otra por inoculaciones intraperitoneales de ratones. La adición de mucina refuerza grandemente la virulencia del cultivo (Rake, 1935; Olitzki y colaboradores, 1947). Luippold (1945) ha recomendado un procedimiento para normalizar la capacidad inmunizante de las vacunas tíficas y de otros antígenos. Se inyectan ratones suizos o ratones negros C-57, con el antígeno de prueba; el grado de inmunidad se determina sometiendo a los ratones, siete días después, a una inyección intraperitoneal de una dosis determinada de un cultivo de virulencia conocida. Los organismos se suspenden en 0,5 c.c. de solución de mucina al 5 por ciento.

Tipos clínicos de infección en el hombre. La fiebre tifoidea es una infección septicémica generalizada, casi siempre con bacteriemia durante las dos primeras semanas de la enfermedad. Al comienzo de la infección los síntomas gastrointestinales son mínimos o no existen, y el paciente puede estar estreñido, si bien más tarde, cuando las placas de Peyer del intestino delgado se ulceran, hay trastornos abdominales intensos.

El *período de incubación* suele ser de 8 a 14 días, con extremos de 3 a 21 días. Durante este período, que dura desde el momento en que el organismo penetró en el cuerpo hasta la aparición de los síntomas, el paciente se siente bien. Poco se sabe acerca de la localización y comportamiento de los bacilos durante el período de incubación, pero los estudios de Goodpasture (1937) permiten suponer que los organismos penetran en la mucosa del intestino y se multiplican en el citoplasma de las células plasmáticas jóvenes. Quizá las células endoteliales de la mucosa intestinal sean también parasitadas como lo son en el embrión de pollo (Goodpasture, 1937). Cuando las células infectadas mueren se liberan gran número de bacilos que infectan a otras células. Este proceso se repite continuamente, en proporción acelerada, hasta que hay una infección generalizada, casi siempre con bacteriemia, y el paciente empieza a presentar trastornos.

Los cambios inmunológicos precoces se definen menos claramente que los hallazgos anatomopatológicos. En el momento de la invasión el antígeno Vi probablemente proteje a los bacilos de cualesquiera anticuerpos anti-O naturales. La autólisis de las células bacterianas libera, sin embargo, la fracción polisacárido del antígeno O y neutraliza específicamente cualquier residuo de anticuerpos anti-O, así como los anticuerpos nuevamente producidos. Los bacilos, por tanto, no encuentran impedimento para invadir todo el organismo hasta que los mecanismos de inmunidad han producido un exceso de anticuerpos anti-Vi y anti-O. En este tiempo hay un exceso acumulado de endotoxina y posiblemente el comienzo de las *reacciones alérgicas* a las proteínas tíficas que prolongan la enfermedad por tres o cuatro semanas después de poderse demostrar en el suero del paciente gran exceso de anticuerpos.

El síntoma inicial de escalofrío sólo se presenta en un 10 por ciento de los casos. El comienzo suele ser insidioso, con dolor de cabeza, malestar general, anorexia y congestión de las mucosas, en especial las de las vías respiratorias superiores. En la serie de 360 casos estudiados por Stuart y Pullen en 1946, se presentó coriza en el 87

por ciento, tos en el 86 por ciento, epistaxis en el 20 por ciento y pleuresía en el 11 por ciento de los pacientes. Se encontraron estertores en el 64 por ciento de ellos, pero rara vez se aisló el bacilo tífico del esputo (Chantemesse y Widal, 1887; Fränkel, 1886-1909). La infección de bronquios y pulmones por los organismos comunes de las vías respiratorias se considera secundaria a la toxemia general producida por la infección.

En la primera semana de la enfermedad tiene lugar probablemente una *bacteriemia*, que no siempre puede ser demostrada. En la serie de 1 138 casos recogidos por Coleman y Buxton en 1907, los hemocultivos fueron positivos en el 89 por ciento de los pacientes durante la primera semana de la enfermedad, 73 por ciento en la segunda, 60 por ciento en la tercera, 38 por ciento en la cuarta y en el 26 por ciento después de la cuarta semana.

Las *aglutininas* empiezan a aparecer en el suero sanguíneo hacia el final de la primera o el comienzo de la segunda semana de la enfermedad, con títulos bajos de 1:20 a 1:40. Hacia el final de la segunda o en la tercera semana han alcanzado concentraciones que tienen valor diagnóstico, con títulos anti-O de 1:500 y anti-H de 1:100 o más. El contenido en anticuerpos del suero empieza a declinar después de seis meses, generalmente en uno o dos años han desaparecido por completo. El convaleciente es hipersensible a las proteínas del bacilo tífico y reacciona positivamente a la inyección intracutánea de tifoidea. La cutirreacción es de tipo tardío y análogo a la tuberculínica.

Aunque los bacilos circulantes son eliminados de la sangre por el hígado y excretados con la bilis, es casi imposible obtener un *coprocultivo positivo* antes del final de la primera semana de la enfermedad. Los estudios de Hiss (1901) demuestran que son positivos el 10 por ciento de los coprocultivos hacia el décimo día de la enfermedad, el 50 por ciento por el vigésimo y el 80 por ciento entre el vigésimoquinto y el principio de la convalecencia. Una incubación preliminar de la muestra fecal en el medio de enriquecimiento de tetrationato sódico aumenta considerablemente la proporción de coprocultivos positivos en todos los períodos de la enfermedad.

Las *manchas rosadas* son pequeñas hemorragias petequiales que aparecen en la piel, en la superficie anterior del tórax y abdomen, entre el décimo y el décimoquinto día de la enfermedad. Estas manchas no son diferentes de las que se ven en el tifus, lo cual explica en parte la confusión que existió durante muchos años entre el tifus y la fiebre tifoidea. Las manchas rosadas aparecen por el tiempo en que las aglutininas del suero han alcanzado un alto título y los bacilos están aún presentes en la sangre circulante y pueden representar aglutinaciones intracapilares o intralinfáticas. Neufeld (1899) y Fränkel (1889-1909) han cultivado los bacilos tíficos de las manchas rosas incididas.

Los *urocultivos* son positivos en 25 por ciento de los casos de fiebre tifoidea. No son raras las *cistitis* y *pielonefritis*; cerca de 0,1 por ciento de pacientes llegan a ser *portadores urinarios*, constantes o intermitentes, de bacilos tíficos virulentos.

Las complicaciones más graves y frecuentes de la fiebre tifoidea son las *hemorragias* por erosión de los vasos sanguíneos de las úlceras intestinales y la *peritonitis* consecutiva de la ruptura de una úlcera. Complicaciones menos frecuentes son la *osteomielitis*, *abscesos metastáticos* en cerebro y otros órganos o tejidos y *meningitis*. La *vesícula biliar* frecuentemente sigue infectada durante semanas, meses o años y esto puede predisponer a la formación ulterior de cálculos vesiculares. La proporción de casos mortales es aproximadamente del 10 por ciento. *

* Desde la introducción de la terapéutica reciente por cloromicetina y aureomicina, esta proporción ha disminuido considerablemente. (N. del T.)

Portador de bacilos tíficos. El portador es el eslabón principal en la cadena de acontecimientos que perpetúan la fiebre tifoidea. El paciente convaleciente continúa excretando bacilos tíficos con las heces y la orina durante tres semanas a tres meses después del restablecimiento. Los pacientes que excretan los organismos desde el tercero al doceavo mes son llamados *portadores temporales;* aquellos que siguen eliminándolos por más de un año son los *portadores crónicos.* Algunos portadores crónicos que eliminan bacilos con intervalos irregulares son llamados *portadores intermitentes* y plantean un problema real y muy difícil para el epidemiólogo que investiga casos esporádicos en una zona limitada o en una institución.

El problema del portador ha sido estudiado intensamente por Ames y Robins (1943). En una serie de 3 130 casos recuperados de fiebre tifoidea en el Estado de Nueva York, excluyendo la misma ciudad, se comprobó que eran portadores crónicos el 2,1 por ciento de los hombres y el 3,8 por ciento de las mujeres, con un promedio de 2,9 por ciento para todo el grupo. Solamente 0,3 por ciento de los individuos de menos de 20 años de edad llegaron a ser portadores, mientras que el 10,1 por ciento del grupo de edad 50-59 años, presentaban este estado en forma crónica. Hubo una diferencia notable en el sexo, evidente en el grupo de mayor edad, donde solamente se hicieron portadores crónicos el 3,5 por ciento de los hombres contra el 16,4 por ciento de las mujeres.

El estado de portador puede establecerse en pacientes que no tienen historia de fiebre tifoidea; los casos muy leves o subclínicos de fiebre tifoidea probablemente son frecuentes en particular en los individuos vacunados.

Transmisión. La fiebre tifoidea puede ser transmitida por contaminación del agua, leche o alimentos por un convaleciente o portador crónico. También pueden ser llevados los bacilos mecánicamente desde las heces a los alimentos por las moscas. La enfermedad también se transmite por contaminación de aguas usadas para la cría de mariscos y por las frutas y vegetales que se consumen crudos.

Gran parte de las mayores epidemias de fiebre tifoidea del pasado fueron causadas por agua o leche contaminadas. El desenvolvimiento de los métodos sanitarios modernos, con dispositivos de alcantarillado adecuados, cloración del agua y pasteurización de la leche, casi han eliminado totalmente estas fuentes como factores de diseminación de fiebre tifoidea. En las zonas rurales, los antiguos baldes de madera en los pozos no protegidos y los manantiales cristalinos de los bosques continúan siendo fuentes de peligro. La mayor parte de los habitantes de la ciudad sólo se exponen a la fiebre tifoidea durante las vacaciones.

El portador crónico sigue constituyendo el principal problema para eliminar la fiebre tifoidea humana. El caso activo de fiebre tifoidea es, por supuesto, un riesgo para los asistentes y otros miembros de la familia, pero el peligro se conoce y se puede evitar por aislamiento del paciente e inmunización activa de los asistentes.

Los portadores crónicos entre mujeres de media edad son cinco veces más frecuentes que entre los hombres del grupo similar; por desgracia, muchas de estas mujeres son cocineras o manipulan alimentos. La más famosa fué la cocinera conocida en EE. UU. con el nombre de *Typhoid Mary,* quien trabajó para ocho familias en el curso de diez años y al parecer fué responsable de siete epidemias de fiebre tifoidea que afectaron a unos 200 individuos (Soper, 1919).

Un criado nativo de Sudáfrica, J. S., fué responsable de cinco epidemias localizadas de fiebre tifoidea desde 1941 (Crocker, 1947). El hecho en este caso es absolutamente concluyente, pues Crocker comprobó que el bacilo tífico aislado de este sirviente (era un portador urinario) no podía ser clasificado con ninguna de las cepas de bacteriófago de Craigie, pero era lisado por una nueva variedad de fago

que recibió el nombre de J. S., como el portador. En todos los casos los organismos recogidos de los pacientes sólo fueron lisados por el fago J. S.

La determinación del tipo con bacteriófagos ha facilitado de manera notable el seguir la pista de las infecciones hasta el propio portador y, al mismo tiempo, ha absuelto de culpa a portadores inocentes de la misma comunidad.

Productos biológicos. Se ha preparado un suero antibacteriano de caballo, pero su uso ha dado poco resultado y su producción ha sido abandonada.

Se dispone comercialmente de una vacuna tífica para inmunización activa. En 1896, Pfeiffer y Kole, en Alemania, y Wright, en Inglaterra, empezaron la inmunización de personas por inyección subcutánea de cultivos tíficos muertos por el calor. El trabajo de Wright fué mucho más extenso que el de los investigadores alemanes y los métodos modernos derivan directamente de sus investigaciones. La vacuna actual está preparada con la cepa del ejército Nº 58 o de una similar antigénicamente. Los bacilos son muertos con formol y preservados con 0,5 por ciento de fenol. Generalmente se incluyen *S. paratyphi A* y *S. paratyphi B* con *S. typhosa.* 500 millones de *S. paratyphi A* y otros tantos de *S. paratyphi B.*

Morgan y colaboradores (1943) han recomendado un nuevo antígeno soluble para inmunización activa. El antígeno se prepara disolviendo las células bacterianas y tratando la solución con formol. Este antígeno no ha sido valorado todavía.

Tratamiento. El tratamiento de la fiebre tifoidea es aún sintomático, si bien hay siempre la esperanza de que un nuevo antibiótico resulte eficaz. Las hemorragias intestinales y la perforación de las úlceras se han reducido notablemente por el suministro adecuado de calorías, proteínas y vitaminas.

Los resultados del tratamiento con *estreptomicina* han sido dudosos (Pulaski y Amspacher, 1947). Los experimentos de Welch y Randall (1947) en tubo de ensayo permiten admitir que la penicilina será eficaz si pueden ser mantenidas concentraciones de 10 a 15 unidades por c.c. de suero sanguíneo.

Knouf y colaboradores (1946) han tratado 56 casos de fiebre tifoidea con el bacteriófago específico de tipo y han logrado que la mortalidad sea sólo de 5 por ciento, lo cual es alentador, pero tal reducción no es de significación estadística. El fago se cultiva sobre la cepa de bacilo tífico propia del paciente y después se inyecta. La inyección subcutánea de 1 c.c. de este fago causa intenso escalofrío y gran reacción febril. La reacción se hace mínima diluyendo el fago en 500 c.c. de solución de glucosa al 5 por ciento y administrando intravenosamente la solución en 48 horas.

La *curación del portador crónico de bacilos tíficos* es más difícil. Todos los intentos con vacunas y agentes quimioterápicos han resultado en el fracaso. La extirpación quirúrgica de la vesícula biliar infectada lleva a la curación, supuesto que no haya una infección asociada de las vías biliares. Los portadores urinarios se pueden curar por extirpación de un riñón lesionado, siempre que pueda demostrarse que el otro riñón está normal (Bondy y Barnwell, 1947). *

Prevención. La prevención de la fiebre tifoidea depende: 1) de la vigilancia de alimentos y suministro de agua; 2) del descubrimiento y aislamiento de los porta-

* Pocas veces, en Medicina, los descubrimientos y experimentos se han ido sucediendo de manera tan vertiginosa como en el tiempo presente, por lo que respecta a los antibióticos. Con ser tan reciente la edición de este libro, no ha alcanzado los descubrimientos de la aureomicina y cloromicetina. Nos referimos aquí solamente a su extraordinaria eficacia en el tratamiento de las fiebres tifoidea y paratíficas. En nuestra experiencia personal, son ya unos diez los casos, cuyo diagnóstico se hizo por el hemocultivo, que en el término de tres días quedaron totalmente apiréticos y clínicamente curados. La cloromicetina se dió en dosis inicial de 50 mg por Kg de peso, después en dosis de mantenimiento de 50 mg cada tres horas. Tanto la aureomicina como la cloromicetina se administran exclusivamente por vía oral; la cloromicetina no nos ha ocasionado ningún síntoma de intolerancia; no así la aureomicina, que ha provocado en algunos pacientes náuseas, vómitos y diarrea, perdiéndose el medicamento por los primeros y resultando por tanto ineficaz. En los pocos coprocultivos y urocultivos practicados en los individuos curados por la cloromicetina no hemos aislado el organismo causal, por lo que creemos que el problema del portador va a quedar resuelto con estos nuevos antibióticos. (N. del T.)

dores crónicos; 3) de la inmunización activa. Como se hizo notar en la introducción de este capítulo, en unas 50 de las mayores ciudades de EE. UU. no hubo muertos por fiebre tifoidea en el año de 1945.

Este triunfo de la Medicina preventiva se logró por el esfuerzo perseverante dirigido hacia los dispositivos adecuados de drenaje, cloración del agua, pasteurización de la leche y descubrimiento y eliminación de los portadores de bacilos tíficos entre los manipuladores de alimentos.

El descubrimiento del antígeno Vi y del anticuerpo Vi ha sido de gran utilidad para el descubrimiento de portadores crónicos entre los que manipulan alimentos. Los portadores suelen tener en sangre un título de aglutininas más elevado que los individuos normales, y casi siempre presentan en suero anticuerpos Vi (Eliot, 1940). Los anticuerpos Vi aumentan muy poco, si acaso, por la vacuna tífica.

La inmunización profiláctica tuvo por resultado la casi completa eliminación de casos mortales de fiebre tifoidea entre las fuerzas armadas norteamericanas en la segunda Guerra Mundial, no obstante que la exposición en algunas áreas debe haber sido casi constante. Esta cuestión se refiere en detalle en las revisiones de Siler (1941) y Callender y Luippold (1943).

La inmunización profiláctica no brinda protección absoluta contra la fiebre tifoidea (Syverton y col., 1946); el restablecimiento de la enfermedad no protege contra una infección masiva. Hay muchos ejemplos de personal de laboratorio que sufrieron fiebre tifoidea leve, grave o mortal después de la ingestión accidental de cultivos (Haedicke, 1947). Generalmente la enfermedad es más leve en los vacunados y la mortalidad aproximadamente la mitad que en los no vacunados.

El valor de la vacunación profiláctica puede ser ilustrado por una epidemia referida por Duncan y sus colaboradores en 1946. Un portador crónico, desconocido, preparaba jugo de naranja para 361 parroquianos que desayunaban en su restaurante. Se presentó un caso de fiebre tifoidea entre los 211 individuos inmunizados y 17 casos entre los 140 que nunca habían sido inmunizados o que no habían recibido vacuna un año antes.

Los *métodos* empleados para la *vacunación profiláctica* han sido objeto de amplios estudios. El clásico procedimiento de administrar tres inyecciones subcutáneas de bacilos, con intervalos semanales, es el más empleado. La dosis inicial es de 0,5 c.c. de vacuna tipo T.A.B., seguida por dos dosis de 1 c.c. cada una. Luippold y sus colaboradores volvieron a investigar en 1947 el efecto inmunizante de estas dosis y comprobaron que tres dosis de 0,5 c.c. daban reacciones menos intensas, títulos de aglutinamiento algo más bajos, pero ciertamente niveles más altos de anticuerpos protectores del ratón. Muchos individuos se hacen gradualmente *hipersensibles* a la proteína de la vacuna tífica y dan reacciones locales y generales más y más intensas conforme se repiten las series de vacunaciones de año en año. En 1931, Tuft introdujo el método intracutáneo de inmunización, empleando 0,1 c.c. de vacuna tipo. Se encontró en el suero un buen título de aglutininas y las reacciones generales fueron eliminadas casi por completo. Perry (1937), trabajando en nuestro laboratorio, repitió el trabajo de Tuft y determinó cuantitativamente ambas aglutininas, O y H, por un período de un año. La mitad de los estudiantes que habían sido inmunizados previamente recibieron una sola dosis intracutánea de 0,1 c.c.; la otra mitad, una dosis subcutánea de 1 c.c. La mitad de aquellos que no habían sido previamente inmunizados recibieron las dosis habituales de 0,5, 1 y 1 c.c. con intervalos semanales y la otra mitad tres dosis intracutáneas de 0,1 c.c. con intervalos iguales. No hubo diferencias significativas entre los cuatro grupos en cuanto a cantidades de aglutininas O y H o duración satisfactoria de las correspondientes concentraciones.

La dosis intracutánea única de 0,1 c.c., o *dosis activadora*, ha sido aceptada como método eficaz e indoloro de *reinmunización* (Siler y Dunham, 1939; Longfellow y Luippold, 1940). El trabajo posterior de Luippold (1944) indica que la inyección intracutánea en dosis de 0,1 a 0,2 c.c., es menos eficaz para inmunización primaria que el procedimiento subcutáneo habitual, por lo menos en lo referente a producción de un nivel adecuado de anticuerpos protectores del ratón. La diferencia en las cantidades de anticuerpos protectores, sin embargo, no ha sido mucha y el método intracutáneo se recomienda para los pacientes de cierta edad y para los individuos alérgicos.

Nosotros usamos el método subcutáneo clásico para la inmunización primaria y el método intracutáneo para la reinmunización. No obstante, si la dosis subcutánea inicial de 0,5 c.c. causa reacción local y general, consideramos que el sujeto ha tenido contacto previo con la proteína tífica y es *alérgico;* en consecuencia, no dudamos en completar la inmunización con dos dosis intracutáneas de 0,1 c.c.

Con la reducción rápida en el número de casos de fiebre tifoidea se ha producido una disminución correspondiente en el número de portadores. Ames y Robins (1943) han calculado que los 2 490 portadores que hay en el Estado de Nueva York se reducirán a 193 por el año de 1980.

ALCALIGENES FAECALIS

Alcaligenes faecalis o *Bacillus faecalis alcaligenes* fué aislado por Petruschky (1896) de la cerveza pasada. Es huésped normal del intestino y en medios selectivos produce colonias incoloras semejantes a las de *Salmonella.* Es un bacilo corto, grueso, *gramnegativo, débilmente móvil;* posee flagelos pobremente desarrollados (Nyberg, 1935).

No fermenta ninguno de los carbohidratos usuales, no forma indol, no licua la gelatina ni aglutina por los sueros polivalentes de *Salmonella.*

Conn (1942) ha propuesto que sea creado un nuevo género, *Agrobacterium,* para incluir este organismo, ciertos patógenos de las plantas y algunas de las bacterias del suelo.

Nyberg (1935) comprobó que muchas de las cepas designadas *Alcaligenes faecalis* deberían haber sido clasificadas como *Vibrio alcaligenes.* Estos bacilos eran bastones largos, finos, curvados, *gramnegativos, activamente móviles* con flagelos lofotricos. Producen reacción alcalina en medios con carbohidratos y se pueden confundir fácilmente con *Alcaligenes faecalis.*

Aunque generalmente son saprófitos, uno o ambos de estos organismos en ocasiones guardan relación con enteritis y se han aislado de la sangre, solos o acompañados de salmonelas (Wilson, 1929; Dick, 1946). También han sido aislados de la sangre en niños con un proceso seudotífico leve (Weintraub y Neter, 1943) y de la orina de pacientes con cistitis (Ahad, 1942).

BIBLIOGRAFIA

Ahad, N. *Indian Med. Gaz.*, 1942, 77:530.
Almon, L. *Bacteriol. Rev.*, 1943, 7:43.
Ames, W. R., and Robins, M. *Am. J. Pub. Health*, 1943, 33:221.
Andrewes, F. W. *J. Path. & Bacteriol.*, 1922, 25:505; 1925, 28:345.
Arkwright, J. A. *J. Path. & Bacteriol.*, 1921, 24:36; 1927, 30:345.
Bayne-Jones, S. *Am. J. Med. Sc.*, 1917, 154:55.
Bien, Z. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt., 1924, 93:196.
Beard, P. J. *Am. J. Pub. Health*, 1940, 30:1077.

BONDY, P. K., and BARNWELL, C. H. *J. Urol.*, 1947, 57:642.
BUDD, W. Intestinal Fever, *Lancet*, 1856, 2:4, y siguientes.
CALLENDER, G. R., and LUIPPOLD, G. F. *J.A.M.A.*, 1943, 123:319.
CHANTEMESSE and WIDAL. *Arch. de physiol, norm. et path., Par.*, 1887.
COLEMAN and BUXTON. *Am. J. M. Sc.*, 1907, 133.
CONN, H. J. *J. Bacteriol.*, 1942, 44:353.
CRAIGIE, J., and BRANDON, K. F. *J. Path. & Bacteriol.*, 1936, 43:233, 249.
——— and YEN, C. H. *Canad. Pub. Health J.*, 1938, 29:448, 484.
——— *Canad. Pub. Health J.*, 1942, 33:41.
CROCKER, C. G. *J. Hyg.*, 1947, 45:118.
DICK, J. C. *J. Hyg.*, 1946, 44:430.
DUNCAN, T. G., DOULL, J. A., MILLER, E. R., and BANCROFT, H. *Am. J. Pub. Health*, 1946, 36:34.
EBERTH, C. *Archiv. f. path. Anat.*, etc., 1880, 81:58; 1881, 83:486.
ELIOT, C. P. *Am. J. Hyg.*, 1940, 31:8, Sec. B.
FÉLIX, A. *J. Immunol.*, 1924, 9:115.
——— *J. Hyg.*, 1929, 28:418.
——— *Lancet*, 1930, 1:505.
FÉLIX, A., and PITT, R. M. *Lancet*, 1934, 2:186.
——— *Brit. Med. J.*, 1943, 1:435.
FRÄNKEL, E. *Centralbl. f. klin. Med.*, 1886, 10.
——— *Deutsche med. Wchnschr.*, 1899, 15:16.
——— *Ztschr. f. Hyg.*, 1909, 34.
GAFFKY, G. *Mitt. a. d. kaiserl. Gsndhtsamte.*, 1884, 2:372.
GARDNER, A. D. *J. Hyg.*, 1929, 28:376.
GAY, F. P., and CLAYPOLE. *Arch. Int. Med.*, 1912, 11.
——— *Arch. Int. Med.*, 1913, 12:613.
GOODPASTURE, E. W. *Am. J. Path.*, 1937, 13:175.
GRINNELL, F. B. *J. Immunol.*, 1930, 19:457.
GRUBER, M., and DURHAM, H. E. *München. med. Wchnschr.*, 1896, 43:206.
GRÜNBAUM, A. S. *Lancet*, 1896, 2:806.
HAEDICKE, T. A. *J. Inf. Dis.*, 1947, 80:113.
HISS. *Med. News*, May, 1901.
KAUFFMANN, F. *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, 1935, 116:617.
KNOUF, E. G., WARD, W. E., REICHLE, P. A., BOWER, A. G., and HAMILTON, P. M. *J.A.M.A.*, 1946, 132:134.
LONGFELLOW, D., and LUIPPOLD, G. F. *Am. J. Pub. Health*, 1940, 30:1311.
LUIPPOLD, G. F. *Am. J. Pub. Health*, 1944, 1151.
——— *Am. J. Pub. Health*, 1945, 35:153.
——— LONGFELLOW, D., and TOPOREK, M. *Am. J. Hyg.*, 1947, 45:355.
METCHNIKOFF, E., and BESREDKA, A. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1911, 25:193.
MEYER, K. F., NEILSON, N. M., SCHOENHOLTZ, P., and FEUSIER, M. L. *J. Infect. Dis.*, 1921, 28:381.
MORGAN, H. R. *Am. J. Path.*, 1943, 19:135.
——— and BECKWITH, T. D. *J. Bacteriol.*, 1939, 37:389.
——— FAVORITE, G. O., and HORNEFF, J. A. *J. Immunol.*, 1943, 46:301.
MORGAN, W. T. J., and PARTRIDGE, S. M. *Brit. J. Exper, Path.*, 1942, 23:151.
MORRIS, J. F., BRIM, A., and SELLERS, T. F. *J. Inf. Dis.*, 1945, 77:25.
MULLER, L. *Compt. rend. Soc. de biol.*, 1923, 89:434.
NEUFELD. *Ztschr. f. Hyg.*, 1899, 30.
NYBERG, C. *Zentr. f. Bakt., Parasit. u. Infektionskrankh.*, 1935, 133:443.
OLITZKI, L., OLITZKI, Z., and SHELUBSKY, M. *Tr. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg.*, 1945, 39:167.
——— SHELUBSKY, M., and HESTRIN, S. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1946, 63:491.
——— SHELUBSKY, M., and EFRATI, E. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1947, 64:258.
PELUFFO, C. A. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1941, 48:340.
PERRY, R. M. *Am. J. Hyg.*, 1937, 26:388.
PETRUSCHKY, J. *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, 1892, 12.
——— *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt., 1896, 19:187.
——— *Centralbl. f. Hyg.*, 1898, 23.
PFEIFFER, and KOLLE. *Ztschr. f. Hyg.*, 1896, 21.
PIJPER, A. *J. Path. & Bacteriol.*, 1938, 47:1.
——— *J. Path. & Bacteriol.*, 1941, 53:431.
——— *J. Bacteriol.*, 1947, 53:257.
——— CROCKER, C. G., and TODD, J. *South African Med. J.*, 1943, 17:175.
PRUDDEN, T. M. *Med. Rec.* N. Y., 1887.
PULASKI, E. J., and AMSPACHER, W. H. *Bull. U. S. Army Med. Dept.*, 1947, 7:101.
RAKE, G. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1935, 32:1523.
SILER, J. F. *Immunization to Typhoid Fever*, Johns Hopkins Press, Baltimore, 1941.
——— and DUNHAM, G. C. *Am. J. Pub. Health*, 1939, 29:95.
SOPER. *Military Surgeon*, 1919, 45:1.

Artículo especial, *J.A.M.A.*, 1946, 131:817.
STUART, B. M., and PULLEN, R. L. *Arch. Int. Med.*, 1946, 78:629.
SYVERTON, J. T., CHING, R. E., CHEEVER, F. S., and SMITH, A. B. *J.A.M.A.*, 1946, 131:507.
TUFT, L. *J. Lab. & Clin. Med.*, 1931, 16:552.
WEINTRAUB, D. H., and NETER, E. R. *Am. J. Dis. Child.*, 1943, 66:413.
WELCH and BLACHSTEIN. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1891, 2.
WELCH, H., and RANDALL, W. A. *J. Lab. & Clin. Med.*, 1947, 32:190.
WIDAL, F. *Bull. Soc. méd. Hôp. de Paris*, 1896, 13.
WILSON, W. J. *A System of Bacteriology in Relation to Medicine*, London, 1929, 4:299.
WRIGHT. *Lancet*, Sept. 1896.
——— *Brit. M. J.*, 1901, Oct. 1903.
——— *Lancet*, Sept. 1902.
WYNNE, E. S., and WILLIAMS, O. B. *J. Bacteriol.*, 1945, 49:629.
ZINSSER. *Proc. N. York Path. Soc.*, 1907.
——— PARKER and KUTTNER. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, Nov. 1920.

CAPITULO XXXIV

SHIGELLA Y SHIGELOSIS

Familia: *Enterobacteriaceae* Rahn. Grupo: *Salmonelleae* Bergey, Breed y Murray. Género: *Shigella* Castellani y Chalmers. Especie tipo: *Shigella dysenteriae* (Shiga) Castellani y Chalmers Sin: Bacilo de Shiga

El género *Shigella* contiene menos especies que el *Salmonella* y es, antigénicamente, menos complejo.

La disentería clínica puede ser causada por: 1) *Shigella;* 2) *Salmonella;* 3) *Endamoeba histolytica;* 4) *Proteus morganii;* 5) bacilos *Paracoli;* 6) un virus (Reimann y col., 1945; Buddingh, 1946). Los organismos del grupo *Shigella* son la causa más frecuente de disentería y, al declinar la fiebre tifoidea, han ganado en impor-

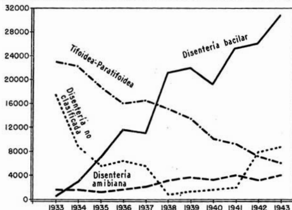


Fig. 95. Frecuencia de fiebre tifoidea y disentería, 1933-1943.

El aumento aparente en la frecuencia de la disentería bacilar se debe, en gran parte, al diagnóstico de diarreas no clasificadas anteriormente. (Según Felsen, *Bacillary Dysentery, Colitis and Enteritis,* W. B. Saunders Co., 1945.)

tancia como causa de infección entérica en los Estados Unidos (fig. 95). En 1944 se registraron en este país 38 000 casos de shigelosis comparados con 6 000 de tifoidea y 3 500 de disentería amibiana. Como muchos casos no son reconocidos o no son registrados, las cifras indicadas deben de representar solamente una pequeña fracción del verdadero número de casos. Los estudios de Watt y Hardy (1945) indican que la morbilidad anual en ciudades con buena organización sanitaria puede

ser tan baja como el 1 por ciento, mientras que en zonas rurales y en los pueblos carentes de organización higiénica se encuentran valores del 20 al 60 por ciento. La mortalidad en los niños puede ser tan alta como del 45 por ciento (Felsen, 1945), pero es insignificante en el adulto, excepto en infecciones causadas por el bacilo productor de exotoxina, *Shigella dysenteriae*.

El primer miembro del grupo *Shigella* fué aislado en el Japón por Shiga en 1898. Muchos investigadores que precedieron a Shiga, habían fracasado al intentar transmitir la infección a los animales o aislar el agente etiológico. Shiga, siguiendo una sugestión de Kitasato, abordó el problema buscando en las evacuaciones de pacientes con disentería un microorganismo que fuese aglutinado por los sueros de convalecientes de la enfermedad. Sus trabajos fueron recompensados al aislar el mismo tipo de organismos de 36 casos y demostrar que todas las cepas eran uniformemente aglutinadas por el suero de convalecientes. Estudios de confirmación demostraron que el bacilo no se encontraba en las deyecciones de individuos normales ni en pacientes de otras enfermedades y que los sueros de estas personas no aglutinaban al bacilo disentérico.

Kruse (1900) aisló el bacilo de Shiga, *Shigella dysenteriae*, de casos de disentería en Alemania; Flexner (1900) cultivó un bacilo disentérico, fermentador del manitol, de pacientes de las Filipinas afectos de disentería epidémica. El bacilo de Flexner, llamado ahora *Shigella paradysenteriae*, ha sido subdividido en cierto número de tipos antigénicos.

La frecuencia creciente de disentería durante la primera Guerra Mundial despertó renovado interés hacia este grupo de organismos, que tuvo por resultado el descubrimiento de *Shigella sonnei* por Sonne en 1915, *Shigella ambigua* por Schmitz en 1917, *Shigella alkalescens* y *Shigella dispar* por Andrewes, en 1918. Un organismo semejante a *Sh. sonnei* fué aislado por Duval en Estados Unidos en 1904.

Shigella paradysenteriae ha sido cultivado de monos en cautividad (Lovell, 1929) y ambos, *Sh. dysenteriae* y *Sh. paradysenteriae*, han sido aislados de perros (Dold, 1916). Con estas excepciones, los organismos del grupo *Shigella* se encuentran sólo en el hombre y se transmiten por enfermos, convalecientes o portadores sanos.

Morfología y tinción. Los bacilos del género *Shigella* son bastones cortos, de 0,5 a 0,7 μ de grueso y de 2 a 3 μ de longitud. Son *no capsulados, no esporulados* e *inmóviles*.

Deben señalarse algunas excepciones. Pueden presentar una cápsula en la fase M, relativamente rara; en algunos casos se han descrito cepas de *Shigella* que eran móviles cuando se aislaron o en las cuales la movilidad se indujo por métodos especiales de cultivo. Se ha observado movilidad en *Sh. alkalescens*, *Sh. dispar*, *Sh. sonnei*, fase I y *Sh.* sp. Q771 (Stuart y col., 1946).

Los bacilos se tiñen con los colorantes usuales de anilina y son *gramnegativos*.

Caracteres de cultivo. Todos los miembros del género *Shigella* son *aerobios*, pero también *anaerobios facultativos*. Se desarrolla rápidamente en los medios usuales a pH 6,4 a 7,8, y temperaturas entre 10° C. y 40° C. con óptimo de 37° C. *Sh. dysenteriae*, *Sh. paradysenteriae* y *Sh. ambigua* no crecerán a la temperatura de 45° C., mientras que *Sh. sonnei* y *Sh. alkalescens* se desarrollan rápidamente a esta temperatura (Stuart y Rustigian, 1943).

Estos organismos pueden crecer en un medio sintético de sales minerales, compuestos amónicos y glucosa. Algunas cepas de Flexner no necesitan factores suplementarios de desarrollo, pero pueden requerir ácido nicotínico; algunas necesitan ácido pantoténico y unas pocas no se desarrollan, a menos que se les suministre uracilo y triptófano (Weil y Black, 1944; Dubos y Geiger, 1946).

Los gérmenes del grupo *Shigella* son inhibidos por agar-sulfito de bismuto, que se aconseja para aislamiento del bacilo tífico, y por el medio de verde brillante que se usa para el aislamiento de las salmonelas.

En la segunda Guerra Mundial, el *agar Salmonella-Shigella* (Difco), generalmente denominado agar S. S., resultó muy útil en los hospitales militares. En los hospitales civiles, donde es posible hacer un trabajo intensivo sobre relativamente pocos pacientes, las muestras deben ser sembradas tanto en placas de *eosina-azul de metileno* como en medio de *Shigella-Salmonella* y citrato-desoxicolato sódico. El medio eosina-azul de metileno no inhibe los organismos coli tan eficazmente como los otros medios, pero ciertas cepas de *Shigella* y las delicadas salmonelas se desarrollan en él cuando no prosperarían en medios más selectivos.

El tipo de medio de cultivo es importante, pero la recolección y selección de las muestras que se han de sembrar es esencial. Como las shigelas vivas desaparecen rápidamente de las evacuaciones que se dejan en los pabellones o en el laboratorio, especialmente si el material tiene reacción ácida, la muestra debe ser sembrada lo antes posible. Si no se puede obtener una evacuación, debe recogerse el material fresco con un proctoscopio, sigmoidoscopio o escobillón rectal. Para la siembra de las placas deben recogerse las partículas del moco, y en particular las que están teñidas en sangre. Con una selección adecuada de la muestra pueden a veces las shigelas desarrollarse en agar simple, en cultivo casi puro, mientras que una muestra recogida sin precaución no dará cultivo en los mejores medios selectivos.

Cuando es obligado conservar o remitir la muestra, debe usarse un conservador como el recomendado por Bangxang y Eliot (1940). Estos investigadores aconsejan añadir a la solución fisiológica tamponada a pH 8,5 uno por ciento de citrato y 0,5 por ciento de desoxicolato.

Después de 24 horas de incubación, las colonias de *Shigella* alcanzan un diámetro aproximado de dos milímetros. Las colonias son circulares, convexas, incoloras, pero moderadamente translúcidas, con superficie lisa y bordes enteros. Aparecen blanquecinas, más opacas cuando se miran sobre fondo obscuro, pero nunca tanto como las colonias típicas de *E. coli*. A veces se ven, en uno o más puntos de la periferia de la colonia, pequeñas proyecciones capilares entrelazadas. Ocasionalmente, en el primer aislamiento y con frecuencia en los subcultivos, aparece un segundo tipo de colonias mayores más translúcidas, con superficie deslustrada y borde ondulado o dentado. Tal cambio en la colonia puede ir acompañado por alteración en la estructura antigénica.

Las colonias incoloras que aparecen en placas de agar S. S. o de eosina-azul de metileno, pueden ser de *Shigella*, *Salmonella*, *Proteus* o bacilos paracolon o incluso de *E. coli* o *A. aerogenes* de crecimiento lento. Los últimos organismos se eliminan fácilmente sembrando en *medio doble azucarado de Russell*, en *medios de hierro triple azucarados de Hajna (B. B. L.)* o en *medio de hierro de Kligler* (Difco). Los organismos que producen ácido en la superficie del medio inclinado y ácido y gas en el fondo de los tubos deben ser descartados. En el medio de urea de Christensen (1946) los *Proteus* producen color rojo que empieza a las dos horas y es completo en seis. Los paracolon *Aerobacter* o paracolon intermedios dan una reacción dudosa en seis horas, pero después de tres a cinco días de incubación producen color rojo definido. Especies de *Shigella* producen en este medio color amarillo y las *Escherichia* paracolon color amarillo o amarillo naranja.

En medios diferenciales, *Proteus morganii*, que puede ser causa de disentería esporádica o epidémica, da las reacciones de azúcar características de las salmonelas, pero en el medio de urea de Christensen producen el color rojo de *Proteus*.

Si en las placas originales se encuentran cierto número de colonias, el diagnóstico de *Shigella* se puede hacer por aglutinación directa en portaobjetos con un suero polivalente anti-*Shigella* (Ewing y Bruner, 1947; Ferguson y col., 1947). En todos los casos el diagnóstico debe ser confirmado por las reacciones bioquímicas adicionales y por aglutinación específica de tipo.

Las siguientes reacciones bioquímicas caracterizan al grupo *Shigella: producen ácido sin gas* en la *glucosa*, reducen los *nitratos a nitritos*, forman NH_3, pero no se desarrollan en el medio *citratado de Koser, no licuan la gelatina*, son *ureasa-negativos, Vogesproskauer-negativos* y *no producen* SH_2.

Se deben hacer notar dos excepciones: *Sh. paradysenteriae* de tipo Newcastle puede producir gas, y algunas cepas de *Sh. alkalescens* forman SH_2 (Galton y Hess, 1946; Barnes y Casterline, 1947).

Las shigelas se dividen en dos grandes grupos, según la forma de producirse en *caldo-manitol. Shigella dysenteriae* (bacilo de Shiga) y las especies afines *no fermentan el manitol*. Las otras especies de *Shigella fermentan el manitol*. Las diferentes especies varían en su producción de *indol* y en la fermentación de la *ramnosa, dulcita, xilosa* y *sorbita;* estas reacciones son útiles para identificar el organismo.

El *óxido de trimetilamina* es reducido por *Sh. sonnei, Sh. alkalescens* y *Sh. dispar*, pero no por otras especies de *Shigella* (Wood y col., 1943). Algunas excepciones a esta regla han sido observadas por Weil (1947). *Sh. alkalescens* forma trimetilamina a partir de la colina (Wood y Keeping, 1944).

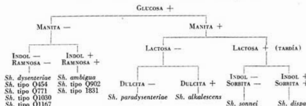
Resistencia. Las shigelas pueden permanecer con vida en agua corriente hasta seis meses, en el agua del mar de dos a cinco meses y en el hielo por dos meses (Felsen, 1945). Es sabido que la leche fresca permite el desarrollo del organismo. La ropa sucia y la que no lo parece pueden alojar los organismos durante días.

Los organismos disentéricos resisten el fenol a 0,5 por ciento durante cinco horas, pero mueren en 16 a 30 minutos cuando se halla al 1 por ciento. Son rápidamente destruídos por temperaturas de pasteurización; en consecuencia, la pasteurización de la leche y productos lácteos y la ebullición o cloración del agua son los métodos más eficaces para evitar la diseminación de los microorganismos.

Las *sulfonamidas* son moderadamente eficaces para inhibir el desarrollo de las shigelas tanto *in vitro* como *in vivo*, pero cuando el tratamiento es inadecuado o irregular aparecen cepas resistentes.

La *penicilina* es ineficaz. La *estreptomicina* inhibe las shigelas en concentraciones de 0,25 a 7,5 microgramos por c.c. de medio de cultivo, pero aparecen cepas resistentes poco tiempo después de la exposición a la droga, tanto en el tubo de ensayo como en los pacientes (Klein y Kimmelman, 1946).

Clasificación de las shigelas por reacciones bioquímicas



Variabilidad. Arkwright, en 1921, logró la variación de *Sh. dysenteriae* en colonias S y R. Las colonias S eran lisas, redondas, en cúpula y daban suspensiones homogéneas al emulsionarlas con suero fisiológico. Las colonias R eran mayores, más planas, con superficie rugosa y bordes irregulares; los organismos tendían a aglutinar espontáneamente en solución salina. Los organismos de las colonias R eran más largos, a veces hasta filamentosos. Alteraciones de las estructuras antigénicas acompañaban a los cambios en la forma de la colonia.

Sh. paradysenteriae muestra la variación típica S-R y, además, una alteración antigénica en las colonias tipo S que no se refleja por un cambio en la forma de la colonia. Este fenómeno fué descubierto por Boyd en 1938 y confirmado por Weil y sus colaboradores en 1946. La variante tipo A de Boyd predomina en los cultivos recién aislados; la tipo B, en los cultivos viejos. La variante A contiene el antígeno específico del tipo particular de *Sh. paradysenteriae*, mientras que la variante B contiene antígenos comunes a otros miembros del grupo *Sh. paradysenteriae*. Este tipo de variación ha sido llamado fase I y fase II. El uso del término *fase* es desafortunado, puesto que esta variación es totalmente diferente de la variación de fase observada con las salmonelas, en la cual el cambio es siempre de la variante específica A a la no específica B y nunca en sentido inverso (Weil y col., 1946).

Ambas variantes, específica y no específica, de la colonia tipo S de *Sh. sonnei* han sido descritas por Wheeler y Mickle (1945). Las verdaderas colonias R se presentan también en los cultivos viejos. En este caso, la variante específica I se distingue fácilmente de la variante no específica II por diferencias en la forma de las colonias.

En los cultivos de *Sh. sonnei* ocurre otro tipo de variación. Esta especie de *Shigella* que, de manera característica, fermenta la lactosa lentamente, produce colonias con papilas o colonias hijas que fermentan la lactosa con rapidez (Neter, 1942).

Colonias enanas D y de tipo G han sido observadas con ciertas cepas de *Sh. dysenteriae* y *Sh. sonnei* (Neter, 1942). Se ha descrito la fase de variación mucoide (M), pero ha sido poco estudiada (Unat, 1946).

Metabolitos bacterianos. Todas las shigelas patógenas poseen potentes *endotoxinas*. *Shigella dysenteriae* (bacilo de Shiga) y algunas cepas de *Sh. ambigua* (bacilo de Schmitz) producen una *exotoxina*, además de la endotoxina usual. En general, las especies que liberan exotoxina y endotoxina provocan infecciones más graves, con mortalidad mayor, que las que sólo producen endotoxinas.

Las *endotoxinas* de los diversos tipos de *Sh. paradysenteriae* han sido identificadas con los antígenos somáticos específicos y se ha demostrado que son *complejos de lípido-carbohidrato-proteína*. Este complejo es tóxico y antigénico. La especificidad serológica depende de la fracción polisacárido, no tóxica, y la toxicidad de la fracción proteínica (Perlman y Goebel, 1946). El polisacárido purificado no es antigénico para los conejos, pero produce anticuerpos en los ratones y en la hembra (Goebel y col., 1945). El antígeno somático completo actúa como una *agresina* inhibiendo la migración de los fagocitos a través de las paredes capilares en la región de la infección y suprimiendo la fagocitosis. Esta actividad se neutraliza por el antisuero homólogo específico.

La *exotoxina* del bacilo de Shiga es retenida dentro del organismo bacteriano hasta la autólisis de la célula. La mayor parte de las preparaciones de exotoxina contienen, por lo tanto, la exotoxina y la endotoxina. Olitski y Kligler (1920) obtuvieron una potente exotoxina de los filtrados de *Sh. dysenteriae* después de cinco días de incubación en caldo alcalino de huevo. Su endotoxina consistía en un filtrado de un autolisado que se prepara por incubación de suspensiones de bacilo de Shiga en solución salina fisiológica durante dos días.

La fase S del bacilo Shiga produce una exotoxina. La facultad de sintetizar toxina, sin embargo, está biológicamente ligada a la proteína somática específica, ya que Dubos y Geiger (1946) obtuvieron variantes R que eran buenas productoras de toxina. La exotoxina es de naturaleza proteínica; los mejores preparados tienen una $D.L._{50}$ de 1 μg para el ratón y 10 μg para el conejo (Dubos y Geiger, 1946).

Se han preparado *toxoides* por tratamiento de las toxinas con formaldehido al 0,5 por ciento y pH 8,5. El toxoide origina inmunidad activa antitóxica en conejos (Olitzki y Bichowsky, 1945) y en ratones (Dubos y Geiger, 1946).

La exotoxina produce lesiones en el bulbo y la medula espinal de conejos, análogas a las que se ven en la encefalitis por virus y en el envenenamiento por el plomo. Los nervios periféricos pueden estar afectados y los animales quedar paralizados cinco a diez días antes de morir.

La inyección intravenosa de endotoxina produce en los conejos una caída rápida de la temperatura, intensa disnea y diarrea violenta que al principio es acuosa; después, sanguinolenta.

En pacientes fallecidos de disentería, Flexner encontró necrosis de coagulación de la mucosa intestinal y creyó que la mayor parte de las lesiones que ocurrían en el intestino eran causadas por la excreción de la toxina disentérica más bien que por acción directa de los bacilos multiplicándose localmente.

Estructura antigénica. Las shigelas son, antigénicamente, menos complejas que las salmonelas. En contraste con las salmonelas, las especies *Shigella* suelen contener solamente uno o, a lo sumo, dos antígenos somáticos mayores. Los antígenos secundarios no son específicos y se presentan en cantidad variable en las diferentes especies de *Shigella*, en bacilos coli y paracoli y en miembros patógenos del género *Erwinia* (Elrod, 1946).

Los antígenos flagelares H no existen, excepto en algunas cepas de *Sh. alkalescens*, *Sh. dispar*, *Sh. sonnei*, fase I y *Sh.* sp. Q771. Por lo tanto, una clasificación general no se complica por los antígenos flagelares específicos.

Las investigaciones de Smolens y sus colaboradores (1946) demuestran que los antígenos somáticos específicos del grupo *Shigella* son antígenos de superficie. En la colonia de tipo R, la pérdida de estos antígenos de superficie se acompaña de pérdida del poder patógeno y de la especificidad.

Como el polisacárido del complejo lípido-carbohidrato-proteína es antigénico por sí mismo cuando se inyecta a ratones y hombres, probablemente el polisacárido rige la especificidad del complejo, como sucede en el neumococo (Smolens y col., 1946; Perlman y Goebel, 1946). Hay dudas acerca de si los "antígenos menores" son verdaderas entidades químicas o simplemente resultado de reacciones cruzadas producidas por una similitud química entre los diversos complejos lípido-carbohidrato-proteína (Smolens y col., 1946).

Se ha comprobado que algunas cepas de shigelas poseen un antígeno adicional exterior con relación al antígeno O, el cual interfiere en la aglutinación con sueros específicos anti-O si no se suprime por ebullición.

En la identificación práctica de las shigelas se emplean ambas reacciones, bioquímica y antigénica. Esto es necesario porque algunos de los organismos coli-*aerogenes*-paracoli tienen reacciones bioquímicas similares a las de las shigelas pero difieren netamente en sus estructuras antigénicas; otras cepas semejan a las shigelas en sus componentes antigénicos pero son muy diferentes en sus reacciones bioquímicas. La mayor parte de los investigadores insisten en que el organismo tiene que demostrar su capacidad de producir disentería en el hombre antes de poderse incluir en el género *Shigella* (Weil, 1947), aunque taxonómicamente ello no parezca justificado.

Hay correlación bastante buena entre las reacciones bioquímicas de las shigelas y sus estructuras antigénicas. El bacilo de Shiga original pertenece al grupo I o de los organismos disentéricos que *no fermentan la manita*.

Los organismos *Shigella* que *fermentan la manita* se dividen en dos subgrupos, según su comportamiento en *caldo lactosado*. Un subgrupo contiene los *lactosa-negativos* y *manita-positivos*. El otro subgrupo incluye los organismos *manita-positivos* que producen una *lenta fermentación de la lactosa*. Los análisis antigénicos y reacciones bioquímicas se usan para establecer especies y tipos dentro de los grupos (figura 96). El grupo 1 de bacilos manita-negativos contiene el bacilo de Shiga original, *Sh. dysenteriae;* el bacilo original de Schmitz, *Sh. ambigua;* y las *Sh.* tipo Q771, *Sh.* tipo Q902, *Sh.* tipo Q1030 y *Sh.* tipo Q1167, aislados y estudiados por Large y colaboradores (1934), Sachs (1943), Gober y col. (1944), Christensen y Gowen (1944), Wheeler y Stuart (1946), Weil (1947) y Carlquist (1947). El germen Q771 es causa más frecuente de enfermedad en Estados Unidos que *Sh. dysenteriae* o *Sh. ambigua*.

El *grupo lactosa-negativo manita-positivo* sólo contiene dos especies consideradas: el bacilo original de Flexner, *Sh. paradysenteriae* y *Sh. alkalescens*. *Sh. paradysenteriae* es la causa común de disentería e incluye 20 o más tipos inmunológicos.

ESCUELA MÉDICA DEL EJÉRCITO

SUEROS DIAGNÓSTICOS AGLUTINANTES PARA EL GÉNERO SHIGELLA

NOMENCLATURA ACTUAL EN EL EJÉRCITO	NOMENCLATURA PROPUESTA POR BOYD	SUEROS DEL ESTUCHE COMPLETO	SUEROS DEL ESTUCHE PEQUEÑO	REACCIONES DE LOS SUEROS POLIVALENTES A, B Y C DE AMBOS ESTUCHES		
				A *	B	C
Sh. paradysenteriae, V	Flexner I	+	Trivalente	+	+ o —	+ o —
" " W	" II	+	Suero VWZ	+	+ o —	+ o —
" " Z	" III	+		+	+ o +	+ o —
" " Boyd 103	" IV	+		+	+ o —	+ o —
" " " P119	" V	+		+	+ o —	+ o —
" " " 88	" VI	+	+	+	+ o —	+ o —
" *sonnei* (liso)		+		+	+ o —	+ o —
" " (rugoso)		+	+	+	+ o —	+ o —
" *rabaulensis*				+	+ o —	+ o —
" *paradysenteriae*, Boyd 170	Boyd I	+		—	+	+ o —
" " " P288	" II	+		—	+	+ o —
" " " D1	" III	+		—	+	+ o —
" " " P274		+		—	+	+ o —
" " " D19		+		—	+	+ o —
" " " P143		+		—	+	+ o —
" *dysenteriae* (bacilo de Shiga)		+	+	—	—	+
" *ambigua* (bacilo de Schmitz)		+	+	—	—	+
" sp. Sachs Q771 (arabinotarda A)		+		—	—	+
" sp. Sachs Q902				—	—	—
" " " Q1030				—	—	—
" " " Q1167 (arabinotarda B)				—	—	—
" sp. Sachs Q454				—	—	—
" " Lavington (etousae)				—	—	—
" *alkalescens*, tipo I			+	(—)**	(—)	(—)
" " " II				(—)**	(—)	(—)
" *madampensis*				(—)**	+ o —	(—)
" *ceylonensis*				(—)**	(—)	(—)

* Las cepas no específicas (p. ej., tipos X e Y) y rugosas se aglutinan generalmente en el suero polivalente A, pero no en los sueros específicos. ** Generalmente negativa. Requiere calor para la aglutinación.

FIG. 96. SUEROS DIAGNÓSTICOS AGLUTINANTES PARA EL GÉNERO SHIGELLA.
(Según Carlquist, *Am. J. Pub. Health*, 1947, 37:840.)

La subdivisión del grupo Flexner de bacilos disentéricos fué iniciada por Andrewes e Inman (1919) quienes establecieron la existencia de los antígenos mayores V, W, X, Y, Z. Posteriormente, el compuesto antigénico Y fué suprimido, pero ha sido restaurado porque se han aislado organismos que poseen el antígeno mayor Y, tanto de casos esporádicos como epidémicos de disentería (Carlquist, 1947). La existencia del antígeno X ha sido puesto en duda por Boyd (1940) y Wheeler (1944), pero Weil (1947) ha recogido y estudiado cepas que contenían el antígeno X. Las reacciones de aglutinación cruzada entre los diversos tipos se atribuyen a la presencia de antígenos menores comunes que pueden ser absorbidos de los sueros aglutinantes específicos de tipo preparados para diagnósticos.

REACCIONES BIOQUÍMICAS DE ALGUNAS ESPECIES DE SHIGELLA

ORGANISMO	GLUCOSA	MANITA	LACTOSA	DULCITA	SORBITA	RAMNOSA	ARABINOSA	INDOL
Sh. dysenteriae	A	—	—	—	—	—	—	—
Sh. ambigua	A	—	—	—	A	A	—	+
Sh. tipo Q454	A	—	—	—	—	—	A	—
Sh. tipo Q771	A	—	—	—	A(1)	—	A	—
Sh. tipo Q902	A	—	—	—	—	A(1)	A	+
Sh. tipo Q1030	A	—	—	A(1)	A(1)	—	A	—
Sh. tipo Q1167	A	—	—	—	V	—	—	—
Sh. tipo A12	A	—	—	—	A(1)		AG	+
Sh. paradysenteriae	A	+	—	—	A	V		±
Sh. alkalescens	A	+	—	A	A	A		+
Sh. sonnei	A	+	A(1)	—	—	A		—
Sh. dispar	A	+	A(1)	—	A	A		+

A = ácido; AG = ácido y gas; A(1) = fermentación lenta; V = variable.

Boyd (1940) simplificó la clasificación denominando los antigenos V, W y Z por los números romanos I, II, III y añadiendo tres nuevos tipos IV, V y VI correspondiendo a sus cepas 103, P119 y 88. Según esta clasificación, los antígenos originales X e Y serían los VII y VIII, respectivamente. Todos estos tipos comparten los antígenos menores comunes. Otras cepas de Boyd que dieron reacciones bioquímicas típicas de los bacilos de Flexner, pero no contenían los antígenos comunes de Flexner, fueron designados Boyd I, II, III, IV, V y VI correspondientes a sus cepas 170, P288, D1, P274, P143, D19 (Boyd, 1938-46).

Weil (1947) numera los organismos de Boyd I a VI como IX a XIV según indica la siguiente tabla; incluye la nueva cepa *Sh. etousae* de Lavington y col. (1946), sin número, y las de doble antígeno como I.III, II.VII, III.IV y V.VII. La clasificación de Weil no ha sido aceptada y la Escuela de Medicina del Ejército de EE. UU. usa la nomenclatura de Boyd (Carlquist, 1947) (fig. 96). Un sistema de clasificación establecido por acuerdo internacional, acabaría con la actual confusión.

Sh. alkalescens ha sido subdividido en cuatro tipos, I, II, III, IV (Neter, 1945). El tipo II aglutina con los sueros específicos de la cepa P143 de Boyd, pero los antígenos mayores de los otros tipos difieren unos de otros y de *Sh. paradysenteriae*.

El grupo de los que *fermentan lentamente la lactosa* incluye dos especies, *Sh. sonnei* y *Sh. dispar*. *Sh. dispar* fermenta la xilosa y la sorbita y produce indol. Antigénicamente es heterólogo; su poder patógeno es dudoso. La relación antigénica de *Sh. dispar*, tipos I y II, con *Sh. paradysenteriae* Boyd 143 fué estudiado por Carpenter y Stuart (1946).

Sh. sonnei no fermenta la xilosa, ni la sorbita y no produce indol. Parece ser antigénicamente homogénea. *Sh. sonnei* produce dos tipos de colonias antigénica y morfológicamente muy diferentes. La tipo S, pequeña, lisa y brillante, probablemente sea la verdadera forma S. La forma S tipo II es mayor, algo elevada en el centro, finamente granular y translúcida en los bordes. Ambas formas se pueden aislar de las deyecciones de pacientes con infección de tipo Sonne pero, en cultivo prolongado, las colonias tipo II suelen llegar a ser predominantes. La forma tipo II queda suprimida en el agar-Shigella-Salmonella usual y en el medio de citrato-desoxicolato, los cuales favorecen el desarrollo del tipo I. Los sueros para aglutinación diagnóstica contendrán aglutininas para ambas variantes de tipo S de *Sh. sonnei* (Wheeler y Mickle, 1945).

ESPECIES Y TIPOS DE SHIGELLA

DESIGNACIÓN EMPLEADA EN ESTA PUBLICACIÓN	SINÓNIMOS	
A. PATÓGENOS HUMANOS ESTABLECIDOS		
Sh. dysenteriae	"Bacilo de Shiga"	
Sh. ambigua	"Bacilo de Schmitz"	
Sh. tipo Q454		Grupo Sachs, Grupo Large-Sachs
Sh. " Q771	*Sh. arabinotarda* A(C&G), Nº 8 524 (Gober)	
Sh. " Q902		
Sh. " Q1030		
Sh. " Q1167	*Sh. arabinotarda* B(C&G)	
Sh. paradysenteriae tipo I	"V" (A&I), Flexner I (B) y (W[1])	"Bacilo de Flexner"
" II	"W" (A&I), Flexner II (B) y Flexner IIa (W)	
" III	"Z" (A&I), Flexner III (B) y (W)	
" IV	Boyd 103, Flexner IV (B) y (W)	
" V	Boyd P119, Flexner V (B) y (W)	
" VI	Boyd 88, Flexner VI (B) y (W), Newcastle,[3] Manchester[3]	
" VII	"X" (A&I)	
" VIII	"Y" (A&I)	
" IX	Boyd 170, Boyd I (B)	
" X	Boyd P288, Boyd II (B)	
" XI	" D1, " III (B)	
" XII	" D19, " VI (B)	
" XIII	" P143, " V (B)	
" XIV	" P274, " IV (B)	
" *etousae*	Lavington	
" I.III	"VZ" (A&I), Flexner I (W)	
" II.VII	"WX" (A&I), Flexner IIb (W)	
" III.IV	Flexner IV (W[2])	
" V.VII		
Sh. sonnei	"Bacilo de Sonne", "Duval", "Duval-Sonne"	
Sh. alkalescens	*Sh. alkalescens* tipo I (de Assis, Neter)	

Abreviaturas: A&I, Andrewes e Inman; B, Boyd; C&G, Christensen y Gowen; W, Wheeler.
1. Cultivos "V" en los que faltan... los antígenos V-Z-103 (283). 2. Cepa 570 (283). 3. Variantes formadoras de gas.

B. Formas serológicas de las cuales se han registrado solamente una o pocas cepas

Nº 83 de Bensted	
Nº 197 de „	
Nº 1063 de „	
Nº 953 de „	"2-193" (Ewing), "Flexner VII provisional" (Francis), "alkalescens tipo III" (Neter)
Nº 1296-7 de Boyd	"Flexner tipo VIII provisional" (Francis)
"Rhemes" de Boyd[5]	
"Harris" de Wheeler	
Nº 2370 de Wheeler	
Sh. sp. Wakefield	Wakefield A y B (274)
B. rabaulensis[4]	
Sh. alkalescens tipo II	
„ „ tipo IV	Cepa Nº 9731 (Neter)
"Mc Diarmid" de Mac Lennan[5]	
P25[5] de Mac Lennan	
Nº 1831 de Wheeler	
A12 de Sachs	

C. Especies de poder patógeno dudoso

Sh. dispar tipo I	*B. ceylonensis* (Castellani)
„ „ „ II (A a C)	

4. ¿Variante de Flexner tipo IV? 5. Perdida. (Weil, A. J., *J. Immunol.*, 1947, 55:363.)

Nota del traductor a la clasificación del género Shigella

Ewing ha propuesto recientemente la siguiente clasificación: Género Shigella (gérmenes disentéricos y afines)

Designación propuesta	Designación anterior
GRUPO A	
Shigella dysenteriae I	*Shigella dysenteriae* (Shiga), bacilo de Shiga-Kruse, *Bacterium shigae*, etc.
II	*Shigella schmitzii*, *Shigella ambigua*, *Bacterium ambiguus*, etc.
III	Q771 del grupo Large-Sachs, tipo 8524 (Gober y col.), *Shigella arabinotarda* A (Christensen y Gowan).
IV	Q1167 del grupo Large-Sachs; *Shigella arabinotarda* B
V	Q1030
VI	Q454
VII	Q902

	Fórmula antigénica abreviada *	Boyd-Wheeler	Andrewes e Inman	Weil	Otros
GRUPO B					
Shigella flexneri I	I:4. ...	F.I	V	F.I	
I	I:4, 6...	F.I	VZ	F.I, III	
II	II:4, ...	F.IIa	W	F.II	
II	II:7, 8, 9...	F.IIb	WX	F.II, VII	
	—:7, 8, 9...		X	F.VII	
	— ·4...		Y	F.VIII	
III	III:6, 7...	F.III	Z	F.III	
IV	IV:4...	F.IV		F.IV	Boyd 103
IV	IV:6...	F.IV		F.III, IV	
V	V:	F.V		F.V	Boyd P119
VI	VI:	F.VI		F.VI	Boyd 88, Bacilo de Newcastle y Manchester, Sh. newcastle

GRUPO C				
Shigella boydii I	B.I		F.IX	Boyd 170
II	B.II		F.X	Boyd P228
III	B.III		F.XI	Boyd D1
IV	B.IV		F.XIV	Boyd P274
V	B.V		F.XIII	Boyd P143
VI	B.VI		F.XII	Boyd D19
VII				Lavington tipo T, *Shigella etousae*
GRUPO D				
Shigella sonnei	Bacilo de Sonne-Duval, Kruse-E-Ruhr, *Shigella ceylonensis* A			
Shigella dispar I	Serotipo I, Carpenter y Stuart, *Shigella madampensis* (Castellani)			
II	Serotipo IIa, b, c, d, Carpenter y Stuart, *Shigella ceylonensis* B (Castellani)			
GRUPO E				
Shigella alkalescens	Serotipos de Stuart y col., tipo I De Assis			

* Para utilizar con nombre y tipo en epidemiología: B = Boyd, F = Flexner.
(De Ewing, W. H., *J. of Bacteriol.*, 57:634, 1949.)

La verdadera variante R ocurre en los cultivos viejos; la colonia es mucho mayor, más plana y granular que la colonia S tipo II. Aparentemente hay algunos antígenos comunes a las variantes R y S tipo II, pero la R es por completo diferente de la S tipo I (Wheeler y Mickle, 1945).

Los métodos de análisis antigénico practicados en el laboratorio de la Escuela de Medicina del Ejército de EE. UU. son recomendables para uso general en laboratorios clínicos y de sanidad pública (Carlquist, 1947). El procedimiento descrito por Ferguson y sus colaboradores (1947) es similar, pero no sirve para identificar los tipos más raros. Ambos métodos de estudio emplean la técnica de aglutinación en portaobjetos usando sueros absorbidos por el método de Wheeler (1944 a y b).

Los conejos se inmunizan con diferentes especies y cepas de *Shigella* y después cada suero se absorbe con diversas cepas de *Shigella* hasta que sea específico.

En la identificación de los cultivos se emplean ambos sueros, monovalente y polivalente. Los sueros polivalentes se obtienen mezclando sueros monovalentes en proporciones adecuadas. Se usan los polivalentes A, B y C. El grupo A contiene aglutininas para *Sh. sonnei* y *Sh. paradysenteriae*, tipos I, II, III, IV, V y VI. El suero grupo B contiene aglutininas para I, II, III, P274, D19 y P143 de Boyd. El suero grupo C tiene aglutininas para *Sh. dysenteriae*, *Sh. ambigua* y *Sh.* tipo Q771 de Sach. Debe observarse que *Sh. alkalescens*, *Sh. madampensis* y *Sh. ceylonensis* no suelen aglutinarse en un suero polivalente si no han sido hervidos. Después de obtenida la aglutinación en uno de los sueros de grupo se emplean para el diagnóstico final sueros monovalentes específicos absorbidos.

Miles de organismos *Shigella* y similares se recibieron en la Escuela de Medicina del Ejército de EE. UU. durante la segunda Guerra Mundial y todos, menos 50, fueron clasificados satisfactoriamente por el procedimiento descrito arriba. Probablemente existen algunos tipos serológicos nuevos en las cepas no diagnosticadas (Carlquist, 1947).

Los estudios antigénicos de las shigelas y otras *Enterobacteriaceae*, con sueros absorbidos, están descubriendo relaciones antigénicas complejas entre ciertas cepas de diversos géneros (Wheeler, Stuart y Ewing, 1946; Ferguson y Henderson, 1947; y Ewing y Gravatti, 1947).

Diagnóstico serológico. El diagnóstico de las shigelosis por descubrimiento de aglutininas específicas en la sangre del paciente no resulta satisfactorio como el serodiagnóstico de las infecciones tífica y paratífica. Las aglutinaciones se producen tardíamente y con títulos más bajos que en las salmonelosis. El gran número de tipos hace necesario el uso de antígenos mezclados que disminuyen las posibilidades de descubrir anticuerpos de títulos bajos. La presencia en muchos individuos normales de títulos de 1:80, 1:160 y en ocasiones 1:320 invalida el diagnóstico basado en una sola prueba positiva, a menos que el título esté por encima de 1:640 (Thomas y Levine, 1946). Sin embargo, una serie de pruebas que demuestre títulos crecientes cuando el paciente mejora puede ser aceptada como diagnóstica.

Bacteriófago. Numerosas cepas de bacteriófago atacan a las shigelas. No ha habido, sin embargo, intentos sistemáticos para usar los fagos *Shigella* como método de clasificación (Weil, 1947).

Enfermedad experimental en animales de laboratorio. Los monos cautivos pueden ser portadores de shigelas; sometidos a una dieta deficiente en ácido fólico suelen presentar disentería clínica. El mono es el único animal al que se le puede provocar una enfermedad semejante a la disentería clínica con cultivos del microorganismo. Se requieren grandes dosis y no todos los animales llegan a infectarse (Dack y Petran, 1934). En este respecto, los monos se asemejan al hombre, por cuanto poseen una susceptibilidad condicionada para los bacilos disentéricos.

Los conejos y ratones son muy sensibles a la acción tanto de las *exotoxinas* como de las *endotoxinas* de las diversas shigelas (pág. 466). Los cobayos son menos susceptibles; gatos y perros son muy resistentes.

La virulencia de las cepas de *Shigella* se puede medir por suspensión de los organismos en mucina e inyección intraperitoneal en ratones. La inmunización de ratones por vía bucal ha sido investigada por Cooper y Keller (1947) y las reacciones inmunológicas del ratón y el conejo han sido comparadas por Doak y sus colaboradores (1946).

El efecto del *bacteriófago* sobre las infecciones por *Shigella* ha sido estudiado en el embrión del pollo y en el ratón; se ha comprobado una definida actividad lítica (Dubos y col., 1943; Morton y Engley, 1945).

Tipos clínicos de infección en el hombre. Shaughnessy y sus colaboradores (1946) produjeron disentería experimental en voluntarios humanos. Se administraron cepas de *Sh. paradysenteriae*, tipos I, II, III, Boyd 88 y *Sh. ambigua* en dosis enormes, pero solamente del 63 al 82 por ciento de los sujetos presentaron la enfermedad clínica. En los experimentos logrados, al cabo de 12 horas empezaron los síntomas abdominales y la fiebre seguidos por diarrea intensa dentro de 18 a 24 horas.

Los síntomas en el hombre son en extremo variables, aun cuando cabe establecer que la epidemia está causada por una especie de *Shigella* de un solo tipo. Algunos pacientes se limitan a sufrir ligera molestia abdominal con algunas evacuaciones sueltas; otros tienen náuseas, vómitos e intensa postración. La diarrea, que empieza como una descarga acuosa, pierde pronto su carácter fecal y finalmente las evacuaciones sólo contienen pus, filamentos de moco y sangre. En este estado hay intensos dolores, cólicos y tenesmo constante.

Las infecciones por *Sh. dysenteriae*, probablemente a causa de las exotoxinas asociadas, tienen una mortalidad aproximada del 20 por ciento (Shiga, 1909). La

mortalidad es mucho menor en los otros tipos de shigelosis, en particular en las infecciones causadas por *Sh. sonnei* y *Sh. alkalescens*. La proporción de muertes es siempre más alta en niños pequeños que en los adultos (Davison, 1922). En realidad, la disentería es una de las causas principales de muerte entre los niños en comunidades donde las condiciones sanitarias son deficientes.

Los bacilos disentéricos aparecen en número moderado en las deyecciones, pero se encuentran a profusión en las úlceras del intestino. A veces alcanzan los ganglios linfáticos del mesenterio, pero rara vez, si acaso, invaden la corriente sanguínea. Por esto es útil intentar el diagnóstico por hemocultivo; se logra aislando el microorganismo de las evacuaciones. En algunos pacientes se presenta la disentería en forma crónica y persiste durante años (Felsen, 1945; Boyd, 1946).

En la convalecencia aparecen en la sangre aglutininas en títulos de 1:160 a 1:1 280. El diagnóstico por aglutinación, sin embargo, es poco satisfactorio, ya que muchos individuos normales tienen títulos de 1:80 a 1:160 para *Sh. paradysenteriae* y alrededor de 4 por ciento tienen títulos hasta de 1:640 (Thomas y Levine, 1946). El diagnóstico puede establecerse por pruebas de aglutinación en serie que muestran una elevación gradual de los títulos conforme el paciente se restablece.

Transmisión. La disentería con frecuencia sólo constituye una molestia en la vida civil bien organizada, pero desde el comienzo de la historia ha sido un factor de importancia principal en las operaciones militares. La mortalidad es baja, pero la incapacidad es grande, de modo que en las unidades combatientes puede quedar una proporción muy reducida de personal válido.

En el entretenido e instructivo libro de Zinsser, *Rats, Lice and History* (1935), se hace la afirmación de que el tifus, la peste, el cólera, la tifoidea y la disentería han decidido mayor número de batallas que todos los grandes generales de la Historia; que se culpa a las epidemias por las derrotas y se acredita a los generales por las victorias, mientras que, en verdad, el crédito debería ser a la inversa. Hay innumerables ejemplos de la importancia de la disentería en la historia militar. Los griegos fueron salvados cuando la peste y la disentería destruyeron los ejércitos de Jerjes I en el año 400 a. de C. Una grave epidemia de disentería impidió a Inglaterra ocupar toda Francia después de su brillante victoria en Agincourt en 1415 (Vincent y Muratet, 1917). Durante la Guerra Civil Norteamericana la morbilidad anual en los ejércitos del Norte fué de 875 por mil y la mortalidad de 10,37 por mil; en los ejércitos del Sur la situación era igualmente mala o peor.

La disentería constituyó un problema de capital importancia en todos los ejércitos durante la primera Guerra Mundial. El ejército británico se vió acosado en Gallipoli e inmovilizado en Mesopotamia por la disentería. Durante la segunda Guerra Mundial las tropas inglesas de Burma sufrieron intensamente por disentería pero, en general, los ejércitos alemanes y japoneses fueron afectados más gravemente que los de los vencedores. Se ha dicho que la brillante victoria de Montgomery en El Alamein dependió en parte de la shigelosis en los ejércitos alemanes e italianos. Incluso la Armada, con su excelente sistema sanitario, tuvo epidemias de disentería en barcos en alta mar y delante de las bahías de Leyte (Weil, 1947) y Tokio (Thompson y White, 1946).

La disentería es mucho más difícil de prevenir que las fiebres tifoideas y paratíficas. La pasteurización de la leche y productos lácteos y la cloración del agua previenen grandes epidemias de disentería de esas fuentes, pero son ineficaces contra la propagación directa de los bacilos disentéricos.

El hombre es la única fuente de organismos disentéricos. En el estudio de la disentería efectuado por Watt y Hardy (1945) en Georgia, Nuevo México y en Puerto

Rico, se encontraron 9,1 de convalecientes o portadores asintomáticos por cada caso de disentería en curso. Esto significa que de 380 portadores encontrados, sólo dos estaban bajo el cuidado de un médico. La fuente de infección potencial es enorme; por lo tanto, la frecuencia real de disentería en una comunidad es un reflejo de la oportunidad para su diseminación.

El portador infecta el agua, la leche y los alimentos. La proporción de portadores en la población civil italiana durante la guerra fué de 6 por ciento y explicaba en parte la continua reinfección de las tropas americanas (Stock y col., 1947). Las moscas llevan los bacilos, pero hay epidemias en el invierno en ausencia de moscas.

Difícilmente se adquiere inmunidad sólida para la disentería, con toda probabilidad a causa de la variedad de tipos antigénicos, tal vez por la inadecuada estimulación del organismo humano en conjunto por los microorganismos de las úlceras localizadas en el intestino o quizá porque los bacilos disentéricos no sean buenos antígenos. La exotoxina del bacilo de Shiga es un buen antígeno pero, afortunadamente, este tipo de infección es raro en Estados Unidos, aunque común en Italia y Oriente. La distribución de las diversas especies y tipos de *Shigella* se indica en la siguiente tabla. Para mayor información específica acerca de la disentería clínica y su epidemiología, el estudiante debe consultar la monografía de Davison (1922) y los libros de Manson-Bahr (1943) y Felsen (1945).

Productos biológicos. Se ha producido una antitoxina para la exotoxina del bacilo de Shiga, pero no se halla todavía en el comercio. Los sueros antibacterianos son ineficaces. Se pueden obtener sueros mono y polivalentes para clasificación de los tipos más comunes de *Shigella*. Se han preparado toxoides de la exotoxina de *Shigella* purificada por tratamiento con formol, pero su utilidad se desconoce (Olitzki y Bichowsky, 1945; Dubos y Geiger, 1946).

DATOS ESTADÍSTICOS RECIENTES SOBRE LA FRECUENCIA DE ESPECIES DE SHIGELLA (POR CIENTO)

AÑO	PAÍS	MUESTRAS	SHIGA	AMBIGUA	FLEXNER	SONNE	ALKALESCENS	OTRAS O NO CLASIFICADAS
1937/8	E. U. A., Nuevo México	514	0	0	77	23	x	x
1939/40	E. U. A., Georgia	79	1	0	76	23	x	x
1939/40	E. U. A., Nueva York	81	0	7	36	57	x	x
1943/4	E. U. A., California	256	x	x	62,9	32,4	x	4,7(1)
1943/4	E. U. A., Estados del Sureste	2 113	0	1,2	33,4	62,0	3,3	0,1
1942	Alemania	7 071	0,9	x	13,2	85,9	x	x
1943	Italia (2)	245	23,3	4,5	69,4	2,8	x	x
1940-42	Fuerzas Británicas del Medio Oriente	17 801	17,9	6,8	61,5	7,2	x	6,6(3)
1940-43	Fuerzas Británicas del Medio Oriente	61 509	18,9	6,7	61,6	7,4	x	5,5(4)
1938-40	India	9 777	10,7	7,1	65,1	16,4	x	0,7(5)
1943-45	Nueva Guinea (6)	1 026	13,4	8,0	80,4(7)	0,2	x	x

(1) *Sh. dispar;* (2) solamente portadores; (3) 4,2 por ciento de manita + 2,4 por ciento de manita — incluyendo shigelas del grupo Large-Sachs; (4) shigelas 3,3 por ciento de manita + y 2,2 por ciento manita —; (5) grupo Large-Sachs; (6) Fuerzas Imperiales Australianas; (7) 2,4 por ciento Flexner tipo XIV; x, no mencionadas. (Weil, A. J., *J. Immunol.,* 1947, 55:363.)

FRECUENCIA DE TIPOS DE SH. PARADYSENTERIAE (FLEXNER) (POR CIENTO)

Año	País	Muestras	Tipos I	I, III	II	II, VII	III	VII	VIII	III, IV	IV	V	VI	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	otros
1943/4	E.U A. Estados del Sudeste	709	3,1	x	26,9		3,2	10,1	2,1	x	1,6	0,1	52,5	0	0,2	0	0	0	0,1	x
1943/4	E.U.A. California	161	35,4	x	0,6	x	5,6	x	x	x	18,7	5,6	8,7	4,4	1,9	1,9	7,4	2,4	7,4	x
1944	E.U.A., Michigan y Nuevo México	142	46,5	x	25,4	x	7,0	0	2,8	x	9,2	2,8	5,6	0	0,7	0	0	0	0	x
1946	Brasil, Río de Janeiro	200[3]	7,5	16,0	34,5	2,0	19,0	1,0	3,0	0,5	2,0	1,5	3,5	0	2,0	0,5	0	0	0,5	x
1944/5	Francia[1]	183	4,8	x	3,3	26,8	6,6	6,6	0	0	2,6	1,7	46,7	0,5	0	0	0	0	0	0,5
1943-45	Argelia[2]	340	63,8							x	3,2	1,2	24,1	2,7	0	0,3	0	1,8	2,9	x
1943/4	Egipto[2]	154[4]	63,5							x	0	0,6	19,5	8,4	2,6	2,0	0	0	1,3	x
1941	Medio Oriente[5]	101	10	x	54	x	4	x	x	x	8	5	8	5	3	1	0	0	2	x
1932-35	India	1 800	77							x	4	2,5	7,5	4	1,5	1,5	0,2	0,3	1,5	x
1944	India[6]	259	34,0	x	28,5	x	4,6	x	x	x	13,5	0,4	13,1	0	0,8	1,9	0	1,2	1,9	x

x = no mencionado en la publicación. [1] Tropas americanas y alemanes prisioneros de guerra. [2] Laboratorios del Ejército de EE. UU. [3] 13 cultivos autoaglutinables. [4] 3 cultivos no clasificados. [5] Laboratorios del Ejército australiano. [6] Calcuta y Assám. (Weil. A. J., *J. Immunol.*, 1947, 55:363.)

Durante años se han estudiado vacunas bacterianas mixtas pero no han resultado prácticas a causa de la toxicidad inherente a los antígenos O somáticos y al volumen de material requerido para incluir los diversos tipos antigénicos. La suspensión de bacilos de "Felba" aumenta la producción de anticuerpos en los animales de experimentación pero no disminuye la toxicidad de los bacilos (Ehrich y col., 1945). El tratamiento con luz ultravioleta reduce, pero no suprime por completo, la toxicidad de los antígenos O específicos (Shaughnessy, 1946; Branham y Habel, 1946). La detoxificación de las exotoxinas por tratamiento químico quizá resulte práctica (Goebel, 1947; Barnes y col., 1947). El camino más prometedor lo señala el descubrimiento de que los polisacáridos específicos no tóxicos de las shigelas son antigénicos para ratones y hombres (Goebel y col., 1945; Perlman y Goebel, 1946).

Tratamiento. Las observaciones hechas durante la segunda Guerra Mundial indican que las sulfonamidas relativamente inabsorbibles, como la *sulfaguanidina*, no tienen ventajas particulares sobre las rápidamente absorbibles como la sulfadiacina. La mayor parte de las sulfonamidas fueron moderadamente eficaces en el tratamiento (Hardy, 1946; Weil, 1947). Aparecen rápidamente cepas sulfonamidorresistentes cuando las dosis son inadecuadas o intermitentes, y estas cepas resistentes pueden iniciar nuevas epidemias (Thompson y White, 1946).

Las cepas de *Shigella* resistentes a las sulfonamidas son sensibles a la *estreptomicina*, pero también se desarrolla resistencia a ésta por un proceso de mutación (Klein y Kimmelman, 1946). El uso simultáneo de sulfonamidas y estreptomicina retrasa o impide por completo la aparición de cepas resistentes.

La disentería crónica responde poco a la terapéutica por las sulfonamidas, pero se han obtenido resultados algo mejores con estreptomicina cuando se administra al mismo tiempo por boca y por inyección intramuscular (Van Gelder y col., 1947). La terapéutica por el bacteriófago ha dado resultados dudosos o negativos, pero no es seguro que se emplearan los fagos específicos. *

* Véase el Apéndice sobre elección de antibióticos en las diversas infecciones; incluyen la aureomicina y la cloromicetina. (N. del T.)

Prevención. La prevención de las shigelosis resulta bastante eficaz en comunidades con Departamento de Sanidad Pública eficiente. La pasteurización de la leche y productos lácteos y la cloración del agua previenen epidemias de importancia. El agua puede ser contaminada de nuevo después de haber sido clorada, y con demasiada frecuencia se produce en EE. UU. una conexión cruzada entre una conducción de agua y otra de drenaje, resultando, por lo usual, en una epidemia de disentería más bien que de tifoidea, probablemente porque en la actualidad el número de convalecientes y portadores de bacilos disentéricos es más alto que el de gérmenes tíficos.

El portador es la fuente principal de shigelosis; es absolutamente necesaria la más escrupulosa limpieza de todas las personas que manipulan alimentos.

El uso de leche ácida ha resultado satisfactorio para prevenir la disentería y otros tipos de infecciones intestinales en los niños pequeños (Davison, 1935).

Lo deseable sería la inmunización activa para los tipos más comunes de *Shigella*, con los polisacáridos no tóxicos.

BIBLIOGRAFIA

Andrewes, F. W. *Lancet*, 1918, 1:560.
——— and Inman, A. C. *A Study of the Serological Races of the Flexner Group of Dysentery Bacilli*, *Med. Res. Comm.*, Spec. Rep. Ser. Nº 42, London, 1919.
Arkwright, J. A. *J. Path. & Bacteriol.*, 1921, 24:36.
Bangxang, E., and Eliot, C. P. *Am. J. Hyg.*, 1940, 31:16, Sect. B.
Barnes, F. W., Dewey, M., Henry, S. S., and Lupfer, H. *J. Immunol.*, 1947, 56:255.
Barnes, L. A., and Casterline, J. E. *U. S. Nav. Med. Bull.*, 1947, 47:478.
Boyd, J. S. K. *J. Hyg.*, 1938, 38:477.
——— *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.*, 1940, 33:553.
——— *J. Path. & Bacteriol.*, 1946, 58:237.
Branham, S. E., and Habel, K. *J. Immunol.*, 1946, 54:305.
Buddingh, G. J. *South. Med. J.*, 1946, 39:382.
Carlquist, P. R. *Am. J. Pub. Health*, 1947, 37:840.
Carpenter, P. L., and Stuart, C. A. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1946, 61:238.
Christensen, W. B. *J. Bacteriol.*, 1946, 52:461.
——— and Gowen, G. H. *J. Bacteriol.*, 1944, 47:171.
Cooper, M. L., and Keller, H. M. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1947, 64:422.
Dack, G. M., and Petran, E. *J. Infect. Dis.*, 1934, 55:1.
Davison, W. C. *Medicine*, 1922, 1:389.
——— *Am. J. Dis. Child.*, 1935, 49:72.
Doak, B. W., Halbert, S. P., Smolens, J., and Mudd, S. *J. Immunol.*, 1946, 52:113.
Dold, H. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1916, 42:811.
Dubos, R. J., Straus, J. H., and Pierce, C. *J. Exper. M.*, 1943, 78:161.
——— and Geiger, J. W. *J. Exper. M.*, 1946, 84:143.
Duval, C. W. *J.A.M.A.*, 1904, 43:381.
Duval and Shorer. *Stud. Rockefeller Inst. M. Research*, 1904, 2.
Ehrich, W. E., Halbert, S. P., Mertens, E., and Mudd, S. *J. Exper. M.*, 1945, 82:343.
Elrod, R. P. *J. Bacteriol.*, 1946, 52:405.
Ewing, W. H. *J. Bacteriol.*, 1946, 51:433.
——— and Bruner, D. W. *Am. J. Clin. Path.*, 1947, 17:1.
——— and Gravatti, J. L. *J. Bacteriol.*, 1947, 53:191.
Felsen, J. *Bacillary Dysentery, Colitis and Enteritis*, W. B. Saunders Co., Philadelphia, Pa., 1945.
Ferguson, W. W., and Henderson, N. D. *J. Bacteriol.*, 1947, 54:179.
———, Branston, M., McCallum, G. L., and Carlson, M. J. *J. Lab. & Clin. Med.*, 1947, 32:349.
Flexner, S. *J. Exper. M.*, 1906, 8.
——— *Phila. Med. J.*, 1900, 6:414.
——— *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1900, 11:231.
——— *J.A.M.A.*, 1901, 36:6.
Galton, M. M., and Hess, M. E. *J. Bacteriol.*, 1946, 52:143.
Gober, M., Stacey, V., and Woodrow, M. *Am. J. Hyg.*, 1944, 40:209.
Goebel, W. F. *J. Exper. M.* 1947, 85:499.
———, Binkley, F., and Perlman, E. *J. Exper. M.*, 1945, 81:315.
Hardy, A. V. *Pub. Health Repts.*, 1946, 61:857.
Klein, M., and Kimmelman, L. J. *J. Bacteriol.*, 1946, 52:471.

KRUSE, W. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1900, 26:637; 1901, 1903.
———, RITTERSHAUS, KEMP, and METZ. *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskh.*, 1907, 41:540.
LARGE, D. T. M., and SANKARAN, O. K. *J. Roy. Army Med. Corps*, 1934, 63:231.
LAVINGTON, R. J., MATHESON, A. J., TAYLOR, J., and FLEMING, W. J. D. *J. Path. & Bacteriol.*, 1946, 58:101.
LOVELL, R. *J. Path. & Bact.*, 1929, 32:79.
——— *Proc. Roy. Soc. Med.*, 1929, 22:820.
MANSON-BAHR, P. *The Dysentery Disorders*, Williams & Wilkins, Baltimore, Md., 1943.
MORTON, H. E., and ENGLEY, F. B. *J.A.M.A.*, 1945, 127:584.
——— *J. Bacteriol.*, 1945, 49:245.
NELSON, C. T., BORG, A. F., SPIZIZEN, J., and BARNES, M. J. *Am. J. Pub. Health*, 1946, 36:51.
NETER, E. *Bacteriol. Rev.*, 1942, 6:1.
——— *J. Immunol.*, 1945, 51:151.
OLITSKY, P. K., and KLIGLER, I. J. *J. Exper. M.*, 1920, 31:19.
OLITZKI, L., and BICHOWSKY, L. *J. Immunol.*, 1945, 52:293.
PERLMAN, E., and GOEBEL, W. F. *J. Exper. M.*, 1946, 84:223.
RAVENEL, S. F., and SMITH, D. L. *South. Med. J.*, 1941, 34:504.
REIMANN, H. A., HODGES, J. H., and PRICE, A. H. *J.A.M.A.*, 1945, 127:1.
———, HODGES, J. H., and PRICE, A. H. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1945, 59:8.
ROTHEY, K. B. *J. Pediat.*, 1935, 7:60.
SACHS, A. *J. Roy. Army Med. Corps*, 1943, 80:92.
SHAUGHNESSY, H. J., OLSON, R. C., BASS, K., FRIEWER, F., and LEVINSON, S. O. *J.A.M.A.*, 1946, 132:362.
SHIGA, K. *Centralblt. f. Bakt.*, I Abt., 1898, 23:599; 24:817, 870, 913; 1909, 42:132.
——— *Deutsche med. Wchnschr.*, 1901, 27:741, 765, 783; 1903, 29:327.
——— *Ztschr. f. Hyg.*, 41.
———, KAWANURA, N., and TSUCHIYA, K. *The Standardization of Dysentery Serum;* First Rep. League of Nations, Health Organization, 1924.
SMOLENS, J., HALBERT, S. P., MUDD, S., DOAK, B. W., and GONZÁLEZ, L. M. *J. Immunol.*, 1946, 52:41.
STOCK, A. H., EISENSTADT, I., TRIPLETT, G. W., JR., and CATTO, A. *J. Infect. Dis.*, 1947, 81:59, 65, 68, 72.
STUART, C. A., and RUSTIGIAN, R. *J. Bacteriol.*, 1943, 46:105.
———, WHEELER, K. M., MCGANN, V., and HOWARD, I. *J. Bacteriol.*, 1946, 52:519.
TAYLOR, G. *J. Pediat.*, 1941, 18:469.
THOMAS, A. R., JR., and LEVINE, M. *Am. J. Clin. Path.*, 1946, 16:98.
THOMPSON, C. M., and WHITE, B. V. *U. S. Naval Med. Bull.*, 1946, 46:901.
UNAT, E. K. *Klinik ve Laboratatuvr Mecmuasi*, 1946, N° 4.
VAN GELDER, D. W., DAINES, W. P., and FISCHER, G. L. *Am. J. Trop. Med.*, 1947, 27:225.
VINCENT and MURATET. *Military Medical Manual*, University of London Press, 1917.
WATT, J., and HARDY, A. V. *Pub. Health Repts.*, 1945, 60:261.
WEIL, A. J. *J. Immunol.*, 1947, 55:363.
——— and BLACK, J. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1944, 55:24.
———, FARSETTA, K., and KNAUB, Y. *J. Immunol.*, 1946, 52:221.
WHEELER, K. M. *J. Immunol.*, 1944, 48:87.
——— *Am. J. Pub. Health*, 1944, 34:621.
——— and MICKLE, F. L. *J. Immunol.*, 1945, 51:257.
——— and STUART, C. A. *J. Bacteriol.*, 1946, 51:317.
———, STUART, C. A., and EWING, W. H. *J. Bacteriol.*, 1946, 51:169.
WOOD, A. J., BAIRD, E. A., and KEEPING, F. E. *J. Bacteriol.*, 1943, 46:105.
——— and KEEPING, F. E. *J. Bacteriol.*, 1944, 47:309.
ZINSSER, H. *Rats, Lice and History*, Little, Brown & Co., Boston, 1935.

CAPITULO XXXV

VIBRIO COMMA Y COLERA ASIATICO

Familia: *Pseudomonadaceae* Winslow y col. Grupo: *Spirilleae* Kluyver y Van Niel. Género: *Vibrio* Müller. Especie tipo: *Vibrio comma* (Schroeter) Winslow y col. Sinónimos: *Spirillum cholerae asiaticae*; Bacilo vírgula

VIBRIO COMMA Y COLERA ASIATICO

Ninguna infección, excepto la peste, ha creado tanto pánico como el cólera. Este probablemente ha sido endémico en la India durante siglos, pero fué desconocido en el mundo occidental hasta 1817. Entre 1817 y 1875 ocurrieron cuatro epidemias separadas de aterradora magnitud, que se extendieron por todo el mundo civilizado. En 1831 fué invadida Europa y en 1832 los emigrantes irlandeses trajeron la infección a Nueva York. En 1848 la enfermedad penetró en EE. UU. por Nueva Orleáns y se extendió rápidamente por el valle del Mississippi.

Durante la epidemia de 1883, Robert Koch aisló un vibrión de casos de cólera en Egipto. Pettenkofer, que creía firmemente que la enfermedad era causada por suciedad, era escéptico acerca de la etiología bacteriana de las enfermedades en general y especialmente del cólera. Pettenkofer decidió plantear la cuestión por experimentación en sujetos humanos. El, Emmerich y varios de sus discípulos, ingirieron cultivos en caldo de vibrión de Koch. Pettenkofer sólo presentó una ligera diarrea con profusión de vibriones en las deyecciones, pero dos de sus compañeros sufrieron enteritis grave típica del cólera leve; su escepticismo disminuyó considerablemente. Por fortuna, ninguno de los voluntarios murió. De tiempo en tiempo han ocurrido infecciones accidentales de laboratorio con resultados más graves y han logrado establecer que *Vibrio comma* es el agente causal de la enfermedad.

El hombre es el único huésped conocido para el vibrión colérico y, como no se ha probado la existencia de portadores crónicos, la enfermedad debe ser mantenida por una cadena ininterrumpida de infecciones leves o inadvertidas. Factores desconocidos rigen la aparición periódica de epidemias en India, Burma y China, desde donde la enfermedad irradia a otras partes del mundo.

La aparición del cólera en la primera parte del siglo diecinueve fué un choque tan grande para la civilización occidental que produjo una reacción universal en pro de la regulación gubernamental de la sanidad. Según Beard (1936), el cólera fué el maestro más eficaz del mundo en sanidad pública.

Morfología y tinción. *Vibrio comma* es un organismo pequeño, curvado o de forma helicoidal, que varía entre 1 a 3 μ de longitud y 0,4 a 0,6 μ de ancho. El grado de curvatura varía desde las formas cortas en forma de coma hasta verdaderas espirales con una o dos vueltas. Los organismos en forma de coma predominan en las muestras fecales y en los cultivos jóvenes (fig. 97); las formas más largas se encuentran en cultivos viejos. Después de cultivo prolongado en medios artificiales los organismos pueden asumir forma netamente bacilar. Se presentan con regularidad formas de involución cuando se añade glicocola al medio (Gordon, 1943).

Los vibriones poseen flagelos terminales, más gruesos que los de la mayor parte de los bacilos, y que parecen estar sujetos al citoplasma del organismo (figura 8, pág. 23). *V. comma* es activamente *móvil*, pero *no esporulado ni capsulado*.

Los vibriones se tiñen rápidamente con los colorantes de anilina y son *gramnegativos*.

Caracteres de cultivo. *Vibrio comma* es *aerobio* y se desarrolla pobremente, si acaso, en condiciones anaerobias. El organismo se puede cultivar fácilmente en medios simples de laboratorio y pH 6,4 a 9,6 con óptimo de 7,8 a 8. Las colonias son bajas, convexas, translúcidas, en forma de cúpula aplanada con bordes enteros y alcanzan un tamaño de 1 a 2 mm, después de 24 horas. Aunque a pH 9,2 no se obtiene un crecimiento máximo, los vibriones se desarrollan moderadamente bien, mientras que el crecimiento de los otros organismos entéricos queda inhibido por exceso de alcalinidad. En consecuencia, los medios selectivos empleados para aislamiento del vibrión colérico suelen ajustarse a pH 9,2. Los vibriones se desarrollan rápidamente a temperaturas entre 22° y 40° C., pero el desarrollo máximo se obtiene a 37,5° C. Linton y Jennings (1944) idearon un medio semisintético con glucosa, caseína digerida, sulfato amónico y sales minerales, excelente para cultivar vibriones para análisis químico.



Fig. 97. Vibrión del cólera.
(Según Fränkel y Pfeiffer.)

Durante años se ha usado el *caldo-peptona alcalino* (pH 8,4) como *medio de enriquecimiento* (Dunham, 1887; Bengtson, 1924). En este medio los vibriones crecen más rápidamente que los demás organismos entéricos; después de 6 a 8 horas de incubación a 37° C. forman una película sobre la superficie del caldo. Las muestras que no pueden ser sembradas inmediatamente deben conservarse en solución de Venkatraman (1941), que consta de 0,3 por ciento de ácido láctico y 0,37 por ciento de cloruro potásico a pH 9,2. Un método de enriquecimiento más difícil de preparar, pero muy eficaz, ha sido descrito por Panja (1942). Las heces coléricas se mezclan con caldo-peptona e introducen en la luz de una bujía de porcelana L_3, la cual, a su vez, se suspende en caldo-sulfito de bismuto de Wilson y Blair modificado por Read. Los vibriones se desarrollan a través de los poros de la bujía y pueden aparecer en cultivo puro en el caldo circundante. El clásico *medio de Dieudonné* ha sido reemplazado por modificaciones de los medios selectivos más modernos usados para los bacilos entéricos. El *medio de citrato desoxicolato* a pH 8,4 da excelentes resultados (Soman y col., 1945), como lo hace la modificación del *medio de bisulfito de bismuto de Wilson-Blair*, al cual se añade 1 por ciento de cloruro de sodio y manosa, y al final se ajusta el pH a 9,2 (Venkatraman y col., 1941). Deben evitarse los medios que contienen verde brillante a causa del efecto inhibidor del colorante sobre *V. comma*.

En muchos casos los vibriones son el único tipo de organismos que aparecen en las evacuaciones acuosas y no es difícil obtenerlos en cultivo puro por siembra di-

recta en placas de agar nutritivo a pH 8,4. El material recogido mediante escobillones rectales o tubos de vidrio lisos, perforados cerca del extremo cerrado, dan aún mejor resultado (Ying, 1940; Reimann y col., 1946).

Producen sulfuro de hidrógeno e indol y *licuan la gelatina* de manera característica (figs. 98, 99). Los *nitratos* son reducidos a *nitritos;* cuando se añade ácido sulfúrico a un cultivo desarrollado en caldo-peptona-nitrato, se produce color rojo. Esta es la clásica reacción *roja del cólera* o indol-nitrosa que en alguna ocasión se consideró diagnóstica, pero ahora se sabe que es producida por todo organismo que produzca indol y reduzca los nitratos (Sen y col., 1946).

La *glucosa*, *sacarosa* y *manosa* están entre los carbohidratos fermentados con producción de *ácido sin gas*. *No fermentan la arabinosa*, *xilosa*, *dulcita* y *lactosa*, pero se puede encontrar alguna cepa ocasional que produzca lentamente ácido en la lactosa. Aunque la mayor parte de las cepas patógenas fermentan la sacarosa y la manosa, pero no la arabinosa (Heiberg, 1936), se ha comprobado que las reacciones bioquímicas para diferenciar los vibriones patógenos de los no patógenos son inciertas (Burrows y col., 1946). Alguna cepa ocasional no produce indol y, en consecuencia, no da la reacción roja del cólera.

Hemólisis. *Vibrio comma* no produce una hemolisina filtrable. En placas de agar-sangre, algunas cepas muestran un aclaramiento de la sangre alrededor de la colonia, pero ello resulta de hemodigestión y no es una verdadera hemólisis (Van Loghem, 1910). Las cepas *El Tor* de vibriones aislados por Gotschlich (1906) producen una *hemolisina soluble*, que puede demostrarse poniendo glóbulos rojos de cabra en contacto de filtrados de cultivos en caldo (Greig, 1914; Read y col., 1942).

Resistencia. *Vibrio comma* muere a las pocas horas en las muestras fecales a la temperatura de la habitación. Los organismos de los cultivos en caldo mueren en



FIG. 98.



FIG. 99.

FIG. 98. VIBRIÓN DEL CÓLERA.
Cultivo por picadura en gelatina de tres días.

FIG. 99. VIBRIÓN DEL CÓLERA.
Cultivo por picadura en gelatina, de seis días. (Según Fränkel y Pfeiffer.)

dos horas por desecación en portaobjetos, pero pueden conservarse durante cuatro años refrigerados, desecados y mantenidos *in vacuo* (Campbell-Renton, 1942).

Los vibriones se destruyen rápidamente por los antisépicos químicos usuales y por la cloración del agua. Los organismos son muy susceptibles al calor; mueren en diez minutos a una temperatura de 55° C. La pasteurización o la ebullición aseguran la inocuidad de la leche y el agua. La supervivencia en el agua o en la tierra es breve por la competencia con otros organismos fecales, pero pueden permanecer vivos de 4 a 7 días en las frutas frescas y vegetales que se guardan en medio fresco y húmedo. Viven solamente de 3 a 4 días cuando se congelan en hielo.

La *penicilina* inhibe el desarrollo de los vibriones, pero las *sulfonamidas* son moderadamente activas. La *estreptomicina* inhibe el desarrollo de *V. comma* en concentraciones de 5 a 10 microgramos por c.c. de cultivo líquido (Reimann, 1946).

Variabilidad. Baerthlein (1911) y Eisenberg (1912) observaron variaciones en la forma de la colonia. Estos estudios sobre la variación fueron continuados por Balteanu (1926) y completados posteriormente por White (1935-40). White describió cuatro variantes distintas que se pueden reconocer como M, S, R y p. En cada una de las tres primeras variantes se encuentra un polisacárido diferente. La variante S se aísla con frecuencia en casos de cólera, es virulenta y aglutinable por el antisuero específico. La variante p es forma degenerada de la fase R, similar a ella, pero sin el polisacárido de superficie. La fase S es relativamente estable y persiste inalterada en algunas cepas después de varios años de subcultivo en medios artificiales.

La colonia lisa (S) típica ha sido descrita en la sección de características de cultivo. La forma R es algo mayor, más rugosa, más plana y puede tener bordes dentados. En las colonias S, R y p los organismos tienen la forma típica de coma.

La colonia tipo M, o rugosa, es mucho mayor y más mucoide que las otras variantes. Microscópicamente, se encuentran grandes cantidades de material mucoide entre las células, rodeándolas de manera que semejan una verdadera cápsula (White, 1940). No hay relación entre la variante capsulada M y la virulencia o tipo inmunológico, ya que las colonias rugosas derivan indistintamente de organismos en formas S, R o p, pero con la mayor frecuencia de las cepas *El Tor*. El material capsular es idéntico inmunológicamente, sea cual fuere el tipo de colonia (White, 1940). La forma M del vibrión del cólera es análoga a las variantes M del grupo *Salmonella* en el cual se puede encontrar un polisacárido idéntico en colonias de especies diferentes (pág. 433). La motilidad, así como el antígeno H, se conserva en las colonias de tipo R y p; se pierde la variante M.

Metabolitos bacterianos. Los vibriones son muy activos bioquímicamente. Bernheim (1943) encontró que *V. comma* tenía 24 por ciento más de grupos aminorreactivos que *E. coli*. En los cultivos bien aireados se produce una catalasa y el almidón es hidrolizado rápidamente sin producción de ácido (Jennings, 1945). Tanto *V. comma* como las cepas *El Tor* forman una *lecitinasa* (Felsenfeld, 1944).

V. comma no produce exotoxina. Quizá la *hemolisina* de los vibriones *El Tor* debe ser considerada como una exotoxina, ya que es netamente tóxica, termolábil y antigénica y puede ser neutralizada por una antihemolisina (Read y col., 1942).

Las *endotoxinas* se encuentran en todos los cultivos virulentos de *V. comma*. Se ha aislado un complejo lípido-polisacárido que parece idéntico al antígeno somático O (Gallut, 1943). La fracción proteína es también tóxica (Grabar y Gallut, 1945; Gallut y Grabar, 1944). También se ha aislado y purificado una fracción pirógena (Gallut y Grabar, 1944).

Burrows y col. (1944) demostraron que la endotoxina aumenta grandemente la permeabilidad de porciones aisladas de intestino de cobayos y conejos normales, pero no tiene acción sobre intestino de animales que han sido inmunizados con vacuna del cólera. Los ratones no pueden ser inmunizados con la endotoxina purificada.

Los vibriones del cólera poseen las fracciones Shwartzman; se ha obtenido el *fenómeno Shwartzman* con extractos adecuados (Linton y col., 1934).

Análisis antigénico. Nuestro conocimiento creciente de los vibriones hace pensar que han evolucionado de manera similar a las salmonelas. Afortunadamente, son menos los tipos, y la diferenciación se puede limitar a los antígenos somáticos O, ya que los antígenos H (flagelares) se sobreponen en tal extensión que todos los vibriones, sean o no patógenos, aglutinan en suero anti-H (Gardner y Venkatraman,

1935). Como el organismo sólo posee un flagelo polar, el antígeno H se halla en cantidad relativamente pequeña comparado con el antígeno O por lo que, con un antisuero preparado por inmunización con vibrión intacto, la aglutinación de tipo O se obtiene en 2 horas; el tipo H de aglutinación no se lee hasta las 12 a 18 horas.

Hay ciertas diferencias significativas, y quizá fundamentales, entre los flagelos de los bacilos móviles y los del vibrión. Estos últimos son más cortos y gruesos y parecen estar sujetos al citoplasma del organismo (página 23), dato indicador de una verdadera estructura anatómica. Los estudios en campo obscuro de Pijper (página 24), sin embargo, hacen pensar que los flagelos de los bacilos móviles del intestino son el resultado, más que la causa, de su motilidad. Además, Gardner y Venkatraman (1935) observaron que los antígenos H del vibrión no son suprimidos por cultivo en agar-fenol, ni destruídos completamente por tratamiento con alcohol frío o caliente como los de las salmonelas. Sin embargo, son termolábiles y producen el característico tipo H de floculación (Balteanu, 1926).

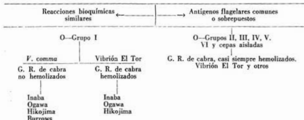
Un descubrimiento interesante y algo sorprendente relacionado con las investigaciones del cólera, durante la segunda Guerra Mundial, fué el de que el antígeno H. de *V. comma* provoca una elevación significativa en las aglutininas para *Brucella* cuando se inyecta como parte de la vacuna ordinaria del cólera (Eisele y col., 1946). Se han encontrado aglutininas para *Brucella* en sueros de personas que hacía más de dos años habían recibido la última dosis de vacuna del cólera (Eisele y col., 1947).

Los primeros intentos de análisis antigénico de los vibriones del cólera por medio de sus antígenos O han sido resumidos por Linton (1940) y por Burrows y sus colaboradores (1946). Durante la segunda Guerra Mundial se logró enorme progreso por Burrows y sus colaboradores, y se fijaron las bases que, con el tiempo, permitirán establecer un cuadro completo de la estructura antigénica de los vibriones patógenos.

Burrows y col. produjeron antisueros O monoespecíficos de cepas de los tipos Inaba y Ogawa del grupo I y de las cepas El Tor y vibriones aislados del agua.

Se identificaron antígenos de A a M. El antígeno A se encontró en todas las cepas I del grupo O, y en ninguna de las cepas de los otros grupos O. El antígeno B se encontró en la mayor parte de Ogawa, y el C en la mayor parte de los tipos Inaba. El tipo japonés Hikojima es conocido como intermedio entre los tipos Inaba y Ogawa; por lo tanto, no sorprendió que el análisis de este tipo demostrara la presencia de antígenos A, B y C. Sobre bases teóricas Burrows sospechó la existencia de un tipo que contenía únicamente antígeno A y logró encontrar varias de tales cepas.

GRUPO DE VIBRIONES DEL CÓLERA



Gardner y Venkatraman (1935) introdujeron una clasificación temporal, de los vibriones que se indica, en una forma modificada, en la tabla anterior.

El análisis del antígeno H reveló diez tipos, designados 1 a 10. Aunque hubo amplia superposición de antígeno H, por combinación de las fórmulas O y H se puede lograr la diversidad suficiente para identificar cepas particulares en una epidemia.

Opinamos con Burrows que la clasificación de los vibriones del cólera debe basarse en la estructura antigénica y que el sistema japonés de tipos debe ser descartado. La siguiente tabla salva el vacío entre la vieja y la reciente literatura.

TIPOS INMUNOLÓGICOS DE VIBRIONES DEL CÓLERA

NOMBRE ANTIGUO DE TIPO	TIPO INMUNOLÓGICO	COMPOSICIÓN ANTIGÉNICA	CEPAS IDENTIFICADAS
*	A	A	Sí
		AD	Sí
		AE	Sí
		ADE	No
Ogawa	AB	AB	No
		ABD	Sí
		ABE	Sí
		ABDE	Sí
Inaba	AC	AC	Sí
		ACD	Sí
		ACE	Sí
		ACDE	Sí
Hikojima	ABC	ABC	No
		ABCD	No
		ABCE	Sí
		ABCDE	No

* Descubierto por Burrows y col. en 1946.
(Tabla preparada con los datos presentados por Burrows y col., *J. Infect. Dis.*, 1946, 79:168.)

Enfermedad experimental en animales de laboratorio. Metchnikoff (1896) provocó una enfermedad mortal de tipo del cólera en crías de conejo, contaminando la ubre materna con cultivos de *V. comma*. En los experimentos clásicos de Koch (1883) se producía una infección mortal en cobayos: 1) por neutralización del jugo gástrico con bicarbonato sódico; 2) por introducción de agua infectada en el estómago, con una sonda, y 3) administrando opio para evitar el peristaltismo activo. Burrows y colaboradores (1947) repitieron los experimentos de Koch y demostraron la multiplicación de vibriones en el intestino de animales normales y una reducción de su número en los animales previamente inmunizados. Esta observación permitió demostrar aglutininas y lisinas para *V. comma* en las heces de cobayos inmunizados. En hombres inmunizados con vacuna colérica también aparecen anticuerpos en las heces, 7 a 10 días después de la inmunización, coincidiendo con la aparición de anticuerpos en el suero o anticipándose a ella (Burrows y col., 1947).

En cobayos se puede producir una infección mortal por inyección intraperitoneal de cultivos virulentos de *V. comma* (Pfeiffer, 1892). Los vibriones se multiplican en la cavidad peritoneal pero no invaden la corriente sanguínea; la muerte ocurre probablemente por absorción de endotoxinas. Los filtrados de cultivos vivos jóvenes sólo tienen ligera toxicidad, mientras que los vibriones muertos por el calor producen, en pequeñas cantidades, la muerte de los cobayos (Pfeiffer, 1892).

Griffitts, en 1942, suspendió vibriones del cólera en mucina al 5 por ciento y comprobó que la inyección intraperitoneal de un número tan reducido como 50 organismos podía producir una infección mortal en ratones. Las pruebas de protección, empleando esta técnica, suministraron un método simple y satisfactorio de medir los anticuerpos protectores en los sueros de animales y hombres inmunizados con diversos tipos de vacunas (Griffitts, 1944; Ranta y Dolman, 1944).

Fenómeno de Pfeiffer. Pfeiffer (1894) fué el primero en demostrar la reacción inmunológica conocida como bacteriólisis. Se introdujeron vibriones en la cavidad peritoneal de cobayos inmunizados activa y pasivamente y, con intervalos breves, se extrajeron muestras del líquido peritoneal para examen. A las pocas horas se observaba cómo los vibriones perdían su motilidad, se hinchaban y deformaban; después se desintegraban por completo. El complemento es necesario para la bacteriólisis y esta substancia accesoria existe en el exudado peritoneal del animal vivo. El suero inmune, sin complemento, no tiene acción manifiesta sobre los vibriones en el tubo de ensayo, pero la adición de complemento a la mezcla da por resultado la lisis rápida y completa de los microorganismos. El suero inmune al que le falte complemento no protegerá a los embriones de pollo de las infecciones mortales con *V. comma*, mientras que la combinación de complemento y anticuerpo sensibilizante protege a los embriones (Wilson, 1946). Estos resultados ofrecen notable contraste con los obtenidos por Jawetz y Meyer (1944) en sus experimentos con infecciones por *Past. pestis* en el embrión de pollo. El suero inmune, aun adicionado de complemento, no proporcionaba protección al embrión para una infección mortal con bacilos de la peste.

Tipos clínicos de infección en el hombre. Los casos leves de cólera no se pueden distinguir clínicamente de los ataques leves de intoxicación alimenticia causadas por estafilococos o por miembros del grupo paratífico. El diagnóstico depende enteramente del aislamiento e identificación del vibrión. Los casos graves de cólera son mucho más dramáticos; alarman al médico y aterrorizan a la comunidad.

El período de incubación es corto, desde seis a ocho horas hasta dos a tres días, según la dosis infectante. Los vibriones se multiplican en el intestino delgado con velocidad prodigiosa; cuando mueren, liberan endotoxinas que irritan y maceran las capas superficiales de la mucosa. Los vibriones ni ulceran la mucosa, como los bacilos disentéricos, ni invaden el cuerpo como el bacilo tífico, pero alteran la permeabilidad de la mucosa intestinal en forma tan drástica que se vierten en la luz intestinal enormes cantidades de líquidos orgánicos (Burrows y col., 1944). La intoxicación general es mínima y se manifiesta por malestar y anorexia; hay muy poca fiebre, sin confusión mental.

El comienzo de los síntomas puede ser gradual, pero más frecuentemente es repentino y explosivo. Aparecen intensos dolores abdominales seguidos por vómitos y diarrea casi continuos. El paciente puede tener 20 a 30 evacuaciones por día, y perder varios litros de agua. Las heces, acuosas al principio, contienen alguna materia fecal, pero ésta pronto es evacuada y las descargas claras, opalescentes, sólo contienen pedacitos de mucosa erosionada con el aspecto característico de "agua de arroz". La excesiva pérdida de líquidos y electrólitos del organismo hace que el paciente presente síntoma de deshidratación extrema. No hay eliminación de orina, la piel se arruga, la nariz se afila, los globos oculares se hunden y la voz es débil y ronca. La presión sanguínea cae, los ruidos cardíacos apenas son perceptibles y el pulso se hace rápido y débil; el ritmo respiratorio aumenta y las mucosas se ponen frías y cianóticas aunque la temperatura rectal puede ser normal o elevada. La sed es intensa y en las extremidades aparecen intensos dolores a manera de calambres. La

pérdida de líquidos causa hemoconcentración extrema, lentitud de la circulación y, finalmente, el coma y la muerte.

El diagnóstico se establece por el cultivo de *V. comma* a partir de las deyecciones. Como las aglutininas aparecen entre los días séptimo y décimosexto después del comienzo de los síntomas, y solamente en los pacientes que se restablecen, la prueba es de poco valor diagnóstico.

Transmisión. No se han encontrado portadores crónicos de *V. comma*. La enfermedad se transmite, al parecer, por los casos leves y al principio de la convalecencia. Ying (1940) encontró que sólo el 1,5 por ciento de los pacientes tenían cul-

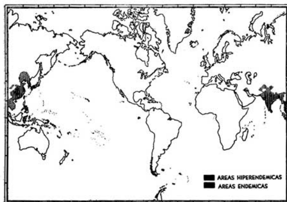


FIG. 100. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DEL CÓLERA.

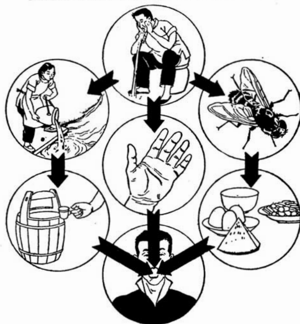
(De Army Institute of Pathology, No. 80106.)

tivos positivos al final de la tercera semana; ninguno fué positivo después del tercer o cuarto mes.

El cólera se transmite principalmente por el agua contaminada y, en grado menor, por frutas y verduras infectadas. La importancia del agua en la transmisión del cólera fué ilustrado por la epidemia Hamburgo-Altona, en 1892. El agua del río Elba, que contenía *V. comma,* pasaba a las cañerías de agua de Hamburgo. Sólo aparecieron unos pocos casos de cólera en el suburbio de Altona, donde el agua del Elba era filtrada por arenas antes de su distribución (Koch, 1893).

Focos epidémicos se encuentran en India, China, Japón, Indias Orientales Holandesas, Basar y Tor, según se indica en la figura 100. La enfermedad se extiende periódicamente en forma epidémica desde estos focos. La epidemia de la India, en 1942 (Tang y col., 1944; Soman y Nail, 1945), y de China en 1946 (Stowman, 1946; Chu y col., 1946; Reimann y col., 1946) proporcionó una oportunidad excelente para estudiar tipos antigénicos y valorar la vacunación profiláctica y la

霍亂傷寒痢疾傳染的途徑



重慶市衛生局印製

預防方法

一 不喝生水
二 不吃露天攤販食品
三 不吃蒼蠅爬過的食物
四 不要和病人接觸
五 要打霍亂傷寒預防針

FIG. 101. CARTEL USADO EN SHANGAI DURANTE LA EPIDEMIA DE CÓLERA DE 1946, PARA ILUSTRAR EL MECANISMO DE DISEMINACIÓN.

(Según Reimann y col., *Am. J. Trop. Med.*, 1946, 26:631.)

terapéutica por sulfonamidas. El tipo *Hikojima* predomina en algunas partes de China; el *Inaba*, en el Japón y algunas partes de la India; *Ogawa*, en otras partes de la India; *El Tor* en Tor y en las Célebes. La mortalidad puede ser relativamente alta o relativamente baja según la epidemia, independientemente del tipo de vibrión que la origine.

Productos biológicos. No hay sueros antiendotóxicos; los antibacterianos son ineficaces. Se dispone de vacunas inactivadas por el calor y de vacunas fenoladas para inmunización activa.

Tratamiento. El paciente con cólera muere por deshidratación, desmineralización y acidosis, más que por las endotoxinas que produce el vibrión. La mortalidad puede ser reducida al 5 por ciento, o sea no mayor que la de las salmonelosis (excluyendo la fiebre tifoidea) por reposición de líquidos, sales y valencias básicas. Deberán administrarse inyecciones continuas intravenosas o intraesternales de solución salina fisiológica o de líquido de Ringer, templadas, a una velocidad de 60 a 100 c.c. por minuto, hasta que la densidad específica de la sangre se reduzca a la normal de 1,054 a 1,058. Cuando hay acidosis intensa y amenaza el colapso debe añadirse a los líquidos de perfusión bicarbonato sódico (2 por ciento) en cantidades de 100 a 300 c.c. por cada 1 000 c.c. de líquido (Reimann y col., 1946). Cuando no se efectúa la terapéutica por líquidos o se dan en cantidades inadecuadas, la mortalidad puede llegar a ser del 50 al 70 por ciento.

Las *sulfonamidas*, particularmente la sulfadiacina, reducen la duración de la enfermedad desde unos 7 a 4 días. Se puede añadir sulfadiacina sódica a los líquidos de perfusión y administrarla por la boca tan pronto como el paciente se halle en estado de retener los líquidos administrados por esta vía. La sulfadiacina no reduce perceptiblemente el número de vibriones en las heces, ni acorta el período de portador (Chu y col., 1946; Reimann y col., 1946).

La *estreptomicina*, para que sea eficaz, debe ser administrada oralmente, pero en el período agudo de la enfermedad es difícil dar nada por esta vía. Es eficaz para reducir el número de vibriones en las heces y acortar el período de incapacidad intensa hasta unos tres días (Reimann y col., 1946).

La *bacteriofagoterapia* ha resultado desalentadora; rara vez se usa (Morison, 1932).

Prevención. La vacunación profiláctica la empezó el bacteriólogo español Ferrán, discípulo de Pasteur, y ha continuado durante la segunda Guerra Mundial. En 1884, Ferrán inmunizó cobayos con cultivos vivos atenuados y en 1885 aplicó su método a un pequeño grupo de sujetos humanos. La primera prueba convincente de la eficacia de la vacunación fué suministrada en 1892 por Haffkine y sus colaboradores en la India.

Como los antígenos somáticos son termoestables, pueden usarse vacunas inactivadas por el calor. Se mezclan los tipos prevalecientes y se prepara una suspensión algo densa, que contenga 8 a 10 millones de vibriones por c.c. La dosis inicial suele ser de 0,5 c.c., seguida por 1 c.c. una semana más tarde, de una dosis activadora de 1 c.c. seis meses después. Los vibriones vivos, después de tratamiento con 0,5 por ciento de fenol, proporcionan buena inmunidad, determinada por pruebas de protección a ratones. La dosis inicial a veces provoca reacciones locales intensas, incluso generales, pero son menos intensas con la segunda dosis. Los anticuerpos protectores aparecen aproximadamente una semana después de la primera inyección (Griffitts, 1944).

La protección proporcionada por la vacuna no es absoluta, pero en general se ha comprobado que en período epidémico la proporción de atacados entre los no vacu-

nados es aproximadamente diez veces mayor que la de los vacunados *(Trop. Dis. Bull.*, 1946, 43:131).

Más bien que la inmunización activa, la meta final debe ser el mejoramiento de la sanidad. Los dispositivos convenientes de drenaje y la supervisión adecuada de la leche y suministros de agua hacen imposibles las epidemias de cólera en gran escala. Los pequeños brotes están asociados con infecciones por contacto en familias o en otros pequeños grupos. Para combatir este tipo de propagación es esencial la educación del público en sanidad. Como indica la figura 101, puede lograrse aún para aquellos que no saben leer.

LOS VIBRIONES EL TOR Y CELEBES

En 1906, Gotschlich aisló vibriones de casos clínicos de cólera en la estación de cuarentena en El Tor. Estas cepas diferían de *V. comma* en que producían una verdadera hemolisina filtrable. Doorenbos (1936) y otros autores han aislado en El Tor muchas cepas que poseen esta característica. No hay otra diferencia biológica, bioquímica o antigénica significativa entre estas cepas y los verdaderos vibriones del cólera (Burrows y col., 1946). En 1937 y 1938 apareció un tipo grave de cólera en las Célebes (DeMoor, 1938; DeVogel, 1940) y se aislaron de los pacientes cepas hemolíticas imposibles de distinguir de los vibriones El Tor (Van Loghem, 1938). La virulencia de ciertas cepas El Tor ha quedado definitivamente establecida; se ha demostrado que tienen una composición antigénica igual a la de *Vibrio comma* (Burrows, 1946). Las razas hemolíticas no virulentas tienen antígenos diferentes que corresponden, en este respecto, a otros vibriones no patógenos. Como la presencia de hemolisina no guarda relación con la virulencia, ni con la estructura antigénica, estos organismos deben ser clasificados con las otras cepas de *V. comma*.

VIBRIONES PSEUDOCOLERICOS

El grupo biológico de los vibriones, al cual pertenece *V. comma*, es grande y contiene probablemente unas cien especies. La mayor parte son importantes para el bacteriólogo clínico, principalmente por las dificultades en diferenciar estos vibriones del verdadero vibrión colérico. Muchos de ellos tienen un simple parecido morfológico con el verdadero vibrión del cólera; otros sólo pueden distinguirse por análisis antigénicos y pruebas de poder patógeno para diversos animales.

Vibrio Metschnikovii. Este vibrión fué descubierto por Gamaléia (1888) en las heces y sangre de una ave doméstica en la cual había causado una enfermedad intestinal. Por su morfología y afinidades colorantes es idéntico a *V. comma*. Posee un único flagelo polar y es activamente *móvil*. En los cultivos es idéntico a *V. comma*, excepto por un desarrollo algo más lujuriante y una licuación más rápida de la gelatina. Da la reacción roja del cólera en medios con peptona.

V. metschnikovii se diferencia del vibrión del cólera en que produce una septicemia rápidamente mortal en palomas por inoculación subcutánea de cantidades mínimas. Es mucho más patógeno para los cobayos que el vibrión colérico y no está sujeto a lisis o aglutinación por los sueros inmunes del cólera.

Vibrio Massauah. Este organismo fué aislado en Massauah por Pasquale, en 1891, de las heces de un caso clínico sospechoso de cólera. Por sus cultivos y su morfología es muy semejante al verdadero vibrión colérico, pero por su poder patógeno se parece a *Vibrio metschnikovii*, pues en pequeñas cantidades produce

septicemia en las aves. Posee cuatro flagelos y no reacciona específicamente con suero inmune de cólera.

Vibrio Proteus. Este vibrión fué aislado por Finkler y Prior (1884) en las heces de un caso de cólera nostras. Morfológicamente es como el verdadero vibrión del cólera, aunque algo mayor y menos uniformemente curvado. En los cultivos también se parece al vibrión colérico, pero se desarrolla con mayor rapidez y de manera más lujuriante en los medios corrientes. No da ni la reacción roja del cólera, ni reacciones serológicas específicas con suero inmune de cólera.

Vibrio Tyrogenus. Este organismo, aislado por Deneke (1885) de la mantequilla, se parece estrechamente a *Vibrio proteus.* No da la reacción roja del cólera.

BIBLIOGRAFIA

Baerthlein, K. *Berl. klin. Wchnschr.*, 1911, 48:373.
Balteanu, J. *J. Path. & Bacteriol.*, 1926, 29:251.
Beard, J. H. *Scientific Monthly*, 1936, 43:515.
Bengtson, I. A. *U. S. Hyg. Lab. Bull.*, 1924, Nº 139, p. 37.
Benheim, F. *Arch. Biochem.*, 1943, 2:125.
Burrows, W., Mather, A. N., Wagner, S. M., and McGann, V. G. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1944, 57:308, 311.
———, Mather, A. N., Elliott, M. E., and Wagner, S. M. *J. Infect. Dis.*, 1946, 79:159, 168.
———, Elliott, M. E., and Havens, I. *J. Infect. Dis.*, 1947, 81:157, 261.
Campbell-Renton, M. L. *J. Path. & Bacteriol.*, 1942, 54:121.
Chu, L. W., Huang, C. H., Chang, C. T., and Kao, H. C. *Am. J. Trop. Med.*, 1946, 26:821, 825.
DeMoor, C E. *Meded. D. V. G. Ned-Ind.*, 1938, 28:320.
Deneke, C. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1885, 11:33.
DeVogel, W. Th. *Bull. Office Internat. d'Hyg. Publique*, 1940, 32:556.
Dieudonné, A. *Centralbl. f. Bakt.*, I Abt., 1909, 50:107.
Doorenbos, W. *Rev. d'Hyg. et de Med. Preventive*, 1936, 58:595, 675, 736; *ibid.* 1937, 59:22, 105.
Dunham, E. K. *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, 1887, 2:337.
Eisele, C. W., McCullough, N. B., Beal, G. A., and Burrows, W. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1946, 61:89.
———, McCullough, N. B., Beal, G. A., and Rottschaefer, W. A. *J.A.M.A.*, 1947, 135:983.
Eisenberg, P. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt., 1912, 56:1.
Felsenfeld, O. *J. Bacteriol.*, 1944, 48:155.
Férran, J. *Compt. rend. Acad. d. Sc.*, 1885.
Finkler, D., and Prior, J. *Centralbl. f. allg. ges. Phys.*, 1884, 1:279.
Gallut, J. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1943, 69:123.
——— and Grabar, P. *Trop. Dis. Bull.*, 1944, 41:401, 402.
Gamaléia, N. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1893, 19:1350.
Gardner, A. D., and Venkatraman, K. V. *J. Hyg.*, 1935, 35:262.
Gordon, J., and Gordon, M. *J. Path. & Bacteriol.*, 1943, 55:63.
Gotschlich, F. *Egypt. Sanit. Dept. Sci. Rep.*, 1906, p. 17.
Grabar, P., and Gallut, J. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1945, 71:321.
Greig, E. D. W. *Indian J. M. Research*, 1914-15, 2:623.
Griffitts, J. J. *Pub. Health Rep.*, 1942, 57:707.
——— *Pub. Health Rep.*, 1944, 59:1374.
Haffkine, W. M. *Bull. med. Par.*, 1892, 7:113.
Harvey, W. F. *Trop. Dis. Bull.*, 1946, 43:131.
Heiberg, B. *J. Hyg.*, 1936, 36:118.
Jawetz, E., and Meyer, K. F. *Am. J. Path.*, 1944, 20:457.
Jennings, R. K. *J. Bacteriol.*, 1945, 49:163.
Koch, R. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1883, 9:615, 743; 1884, 10:63, 111, 191, 221, 725.
——— *Deutsche med. Wchnschr.*, 1885, Nº 37A, Sept. 12, p. 1.
——— *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, 1893, 14:393.
Linton, R. W. *Bacteriol. Rev.*, 1940, 4:261.
———, Singh, H., and Seal, S. C. *Indian J. Med. Res.*, 1934-35, 22:659.
——— and Jennings, R. K. *Arch. Biochem.*, 1944, 3.419.
Metchnikoff, E., Roux, E., and Salimbeni. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1896, 10:257.
Morison, J. *Bacteriophage in the Treatment and Prevention of Cholera*, H. K. Lewis & Co., Ltd., London, 1932. Citado de Topley and Wilson.
Panja, G. *Indian J. Med. Res.*, 1942, 30:391.
Pasquale, A. *Gior. med. d. r. esercito, etc.*, Roma, 1891, 39:1009.
Pfeiffer, R. *Ztschr., f. Hyg.*, 1892, 11:393.

—— *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, 1894, 18:1.
—— *Deutsche med. Wchnschr.*, 1894, 20:305.
—— and Issaeff, V. I. *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, 1894, 17:358.
—— and Nocht. *Ztschr. f. Hyg.*, 1889, 7:259.
—— and Wassermann, A. *Ztschr. f. Hyg.*, 1893, 14:46.
Pickles, M. M. *Nature*, 1946, 158:880.
Ranta, L. E., and Dolman, C. E. *Canad. J. Pub. Health*, 1944, 35:473.
Read, W. D. B., Pandit, S. R., and Das, P. C. *Indian J. Med. Res.*, 1942, 30:183.
Reimann, H. A., Chang, G. C. T., Chu, L. W., Liu, P. Y., and Ou, Y. *Am. J. Trop. Med.*, 1946, 26:631.
Seal, S. C. *Ind. Med. Gaz.*, 1946, 81:321.
Sen, S. N., Basu, P. N., and Chakraborty, D. C. *Ind. J. Med. Res.*, 1946, 34:151, 157.
Soman, D. W., and Nail, S. K. *Ind. Med. Gaz.*, 1945, 80:512.
Stowman, K. *Epidem. Inform. Bull.*, 1946, 2:877.
Tang, F. F., Chu, C. M., and Wong, Y. W. *Ind. J. Med. Res.*, 1944, 32:1.
van Loghem, J. J. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I. Abt., 1910, 57:289; 1912, 67:410.
—— *Bull. Office Internat, d'Hyg. Publique*, 1938, 30:1520.
Venkatraman, K. V., Krishnaswami, A. K., and Ramakrishnan, C. S. *Indian J. Med. Re* 1941, 29:419, 681.
White, P. B. *J. Hyg.*, 1935, 35:347, 498.
—— *Brit. J. Exper. Pathol.*, 1936, 17:229.
—— *J. Path. & Bacteriol.*, 1938, 46:1.
—— *J. Path. & Bacteriol.*, 1940, 50:160.
Wilson, A. T. *J. Exper. M.*, 1946, 84:293.
Ying, Y. Y. *Chinese Med. J.*, 1940, 58:595.

CAPITULO XXXVI

PSEUDOMONAS AERUGINOSA Y PIOCIANOSIS

Familia: *Pseudomonadaceae* Winslow y col. Grupo: *Pseudomonadeae* Kluyver y Van Niel. Género: *Pseudomonas* Migula. Especie tipo: *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula. Sinónimos: *Bacillus pyocyaneus, Pseudomonas pyocyanea*

Los bacilos gramnegativos que producen pigmentos solubles en agua están ampliamente distribuídos en la naturaleza y han sido agrupados en el género *Pseudomonas*. Se ha dicho que *Ps. aeruginosa* podía ser idéntico a *Phytomonas polycolor* (Elrod y Braun, 1942) patógeno de las plantas.

Ps. aeruginosa es la única especie patógena para el hombre y aun en él su poder patógeno depende más de la resistencia del paciente que de la virulencia inherente al organismo.

En los días anteriores a la asepsia muchas heridas contaminadas, especialmente heridas crónicas y fístulas de larga duración, evacuaban pus verde brillante o azul. No son raras las infecciones cruzadas, y *Ps. aeruginosa* se ha recogido del aire de salas de hospital donde había uno o más enfermos con piocianosis.

Ps. aeruginosa fué aislado y denominado *Bacillus pyocyaneus* por Gessard en 1882. Este bacilo es un habitante periódico del intestino del hombre; a veces puede ser aislado de la piel normal, particularmente de las axilas y el perineo. Se puede encontrar en cualquier parte del cuerpo como invasor primario, pero con mayor frecuencia como secundario. Con la supresión de los cocos gramnegativos por la terapéutica penicilínica, el equilibrio natural entre cocos y bacilos está alterado y las infecciones causadas por este organismo están siendo relativamente más frecuentes.

Morfología y tinción. *Ps. aeruginosa* es un bacilo pequeño, fino, generalmente recto, pero que puede ser algo curvo; mide alrededor de 1 a 2 μ de longitud y 0,3 μ de grueso. El organismo es *activamente móvil* y posee uno a tres flagelos polares. Es *no esporulado* y *no capsulado;* se tiñe fácilmente con los colorantes de anilina. Este organismo *gramnegativo* suele teñirse uniformemente, pero en condiciones mal definidas aparecen en él gránulos bien desarrollados que se tiñen intensamente por las coloraciones de Neisser y Ljubinsky y pueden, por tanto, inducir en error con *C. diphtheriae*, a menos que se observen su mayor grosor y su carácter de gramnegativo.

Características de cultivo. *Ps. aeruginosa* es *aerobio*. Aunque algunas cepas se desarrollan anaeróbicamente, en estas condiciones no producen pigmento. Se obtiene un desarrollo excelente en todos los medios usuales de laboratorio entre límites de temperatura de 5° a 42° C., con óptimo a 37° C.

En *agar común*, después de incubación de 24 horas, se producen colonias extendidas, grandes, blandas, lisas, grisáceas, que pueden llegar a ser confluentes y cubrir toda la superficie del medio. Las colonias no son coloreadas, pero el pigmento soluble producido por los organismos difunde en el medio para producir color verde brillante fluorescente, que se hace más obscuro después de varios días y puede impartir lustre metálico al crecimiento en superficie.

Licua la gelatina rápidamente, produciendo una depresión recubierta de una película verde espumosa.

El desarrollo en *caldo* es rápido con la mayor densidad de crecimiento cerca de la superficie del medio, formando una película gruesa con una cepa superficial verdosa.

El pigmento típico no puede observarse en cultivos sobre *agar-sangre*. En 24 a 48 horas el desarrollo es profuso y suele cubrir toda la placa con una película fina, a semejanza de lo que hacen los *Proteus*. El característico *olor aromático* es muy diferente del olor pútrido de *Proteus*.

Produce NH_3, pero los nitratos no son reducidos a nitritos. *No forma indol ni* SH_2, si bien se puede obtener una falsa reacción positiva para indol con el reactivo de Bohme ya que el ácido vuelve rojo al piociánico. Fermenta la *glucosa* con producción de *ácido sin gas;* los otros carbohidratos no son afectados (Sandiford, 1937; Ferramola y Monteverde, 1939; Seleen y Stark, 1943).

Resistencia. *Ps. aeruginosa* muere por calentamiento a 55° C. durante una hora, pero es algo más resistente a los antisépticos químicos usuales que otros bacilos gramnegativos.

Algunas cepas son moderadamente susceptibles a las *sulfonamidas;* otras son muy resistentes o adquieren rápidamente resistencia (Joy, 1942; Stanley, 1947). La *penicilina* es ineficaz; de hecho, *Ps. aeruginosa* sobrevive, si es que no se desarrolla en soluciones concentradas de penicilina. La susceptibilidad a la *estreptomicina* varía según las cepas; algunas son rápidamente inhibidas con 1 microgramo por c.c. mientras que otras se desarrollan en medios con 400 microgramos por c.c. de cultivo líquido. Rápidamente aparecen cepas estreptomicinorresistentes, pero las cepas sulfonamidorresistentes pueden ser susceptibles a la estreptomicina.

El *fenoxetol (β-fenoxetilalcohol)* en solución al 2,2 por ciento destruye los organismos en quemaduras infectadas y heridas abiertas (Gough y col., 1944). Se ha comprobado que una *mezcla* de *uretano* al 10 por ciento y *sulfanilamida* al 1 por ciento es más eficaz que cada una de las drogas por separado (Howe y Weinstein, 1947). El *ácido acético* en solución al 0,5 ó 1 por ciento mata rápidamente a *Ps. aeruginosa* en úlceras superficiales y oídos infectados.

Variabilidad. *Ps. aeruginosa* es un organismo inestable que en 1895 fué clasificado por Schürmayer entre los "esquizomicetos pleomorfos". Rápidamente tiene lugar el tipo usual de variación S—R; se han descrito por Sonnenschein (1927) colonias de tipo M. Hadley (1924) observó colonias de *Ps. aeruginosa* que eran: 1) no pigmentadas; 2) inmóviles, y 3) no líticas; también se forman colonias intermedias con tipos secundarios imprecisos. En las colonias R y en los cultivos viejos se han observado formas cocoides y organismos ramificados.

Metabolitos bacterianos. *No produce exotoxina,* aunque los cultivos viejos en caldo contienen una *hemolisina* que lisa los glóbulos rojos de perro, conejo, carnero y hombre. Esta hemolisina quizá deba ser considerada como una exotoxina, ya que Wilson (1922) logró producir con ella una antihemolisina específica.

En los filtrados de cultivos viejos hay una *endotoxina* que ha sido identificada por Boivin y Mesrobeanu (1937) como un complejo glucolípido. La fracción polisacárido del complejo no es tóxica. La hemolisina lipoidea de Wilson, que no era antigénica, puede ser una parte del complejo glucolípido.

Ghéorghiewski (1899) describió un fermento destructor de leucocitos que quizá sea una verdadera *leucocidina*.

Produce una *catalasa,* una *proteinasa* y, en ocasiones, una *creatinasa* (Kopper, 1947). La proteinasa explica la licuefacción de los tejidos destruídos por la endotoxina.

Tanto en los cultivos como en el cuerpo de los animales, produce pequeñas cantidades de ácido cianhídrico (Patty, 1921).

Producción de pigmento. Ps. aeruginosa produce dos tipos de pigmento soluble en agua: *fluoresceína* y *piocianina*. La fluoresceína es un pigmento fluorescente amarilloverdoso ($C_4H_7O_2N$) soluble en agua, pero no en cloroformo (Turfitt, 1937). El medio debe contener fosfatos y sulfatos para que tenga lugar la síntesis de este pigmento. En los cultivos viejos la fluoresceína se oxida y transforma en un pigmento pardoamarillento llamado *pioxantosa* (Jordan, 1899). *Ps. fluorescens* y otras especies saprófitas de *Pseudomonas* producen fluoresceína pero no piocianina.

La *piocianina* es un pigmento verdeazulado soluble en cloroformo y en agua. Se pueden recoger cristales azules, largos ($C_{26}H_{20}N_4O$), derivados de la fenazina; fueron los primeros encontrados en la Naturaleza (Werede, 1930). Con los ácidos la piocianina forma sales coloreadas de rojo. No se requieren fosfatos ni sulfatos para la síntesis de este pigmento.

Piocianasa. Emmerich y Loew (1899) extrajeron de los filtrados de cultivos viejos en caldo una substancia que tenía acción bactericida y lítica sobre los cultivos de cocos grampositivos, de *Neisseria, Corynebacterium, Proteus, Brucella* y *Clostridium*. Esta substancia resiste la ebullición durante varias horas; no es una enzima sino un pigmento, α-oxifenazina, que ha sido aislado en forma cristalina (Schoental, 1941). Otra substancia, de naturaleza oleica, es particularmente eficaz contra *V. comma* (Schoental, 1941).

Estructura antigénica. El complejo glucolípido aislado por Boivin y Mesrobeanu (1937) es tóxico, pero antigénico; probablemente corresponde a complejos similares aislados de salmonelas. La fracción polisacárido no es tóxica ni antigénica para conejos. Las diversas cepas son heterólogas y no han sido clasificadas en grupos. Wilson (1922) comprobó que ciertas cepas "Z" de *Ps. aeruginosa* se parecían al *Proteus OX19* en su aglutinabilidad por sueros de pacientes con tifus.

Enfermedad experimental en animales de laboratorio. Conejos, cobayos, ratones y cabras mueren por dosis moderadas de cepas virulentas de *Ps. aeruginosa*. Otras cepas producen una enfermedad leve o no causan trastorno. La inyección subcutánea a cobayos o conejos tiene por resultado la aparición de un edema hemorrágico en el sitio de la inoculación, con abscesos metastáticos en los órganos internos, punteado hemorrágico en estómago e intestinos y, algunas veces, nefritis.

Tipos clínicos de infección en el hombre. La importancia de la *Ps. aeruginosa* como patógeno no se conoce bien. En China se ha publicado un caso de bacteriemia con síntomas de tifoidea leve (Dold, 1918). En la India se ha observado en niños una enteritis semejante a la salmonelosis (Chakravarti y Tyagi, 1937). En otra epidemia, también en la India, los síntomas fueron semejantes a los del cólera (Ghosh, 1938). En nuestra clínica hemos visto niños con enteritis que en las deyecciones tenían como germen dominante *Ps. aeruginosa*.

Brill y Libman publicaron en 1899 casos de septicemia generalizada y en 1901 Wassermann estudió once niños que murieron de septicemia consecutiva a infección del cordón umbilical.

Ps. aeruginosa ha sido aislado de la faringe en cierto número de casos de angina agranulocítica, pero no se puede saber si el organismo era la causa primaria de la neutropenia o sólo constituía un invasor secundario (Keeney, 1930; Stanley, 1947). Las infecciones locales varían desde los procesos crónicos pero leves de la piel, infecciones de heridas, otitis media crónica, etc., hasta los procesos genitourinarios más graves y las infecciones mortales de *pulmones, válvulas cardíacas, meninges* y *cerebro*. Las lesiones locales del ojo son más rápidamente destructoras que las

causadas por el neumococo o el gonococo (Joy, 1942; Stanley, 1947). Las infecciones leves del oído son extremadamente crónicas y persisten cinco a diez años, a menos que sean tratadas con ácido acético o con estreptomicina (Callaway, 1947). En 1947, Stanley publicó una revisión excelente de los tipos clínicos de piocianosis.

Tratamiento. Las sulfonamidas suelen curar la piocianosis de los riñones, si se eliminan factores mecánicos como cálculos o estrecheces. Los pacientes con infecciones pulmonares, septicemia o piemia suelen morir porque estas formas de la infección son comunes en pacientes debilitados. El tratamiento intenso con estreptomicina puede salvar algunos de estos enfermos (Stanley, 1947).

Una proporción considerable de los casos de meningitis se han observado después de una punción lumbar diagnóstica; para eliminar este peligro es necesario preparar cuidadosamente la piel antes de introducir la aguja.

BIBLIOGRAFIA

Boivin, A., and Mesrobeanu, L. *Compt. rend. Soc. de biol.*, 1937, 125:273.
Brill and Libman. *Am. J. M. Sc.*, 1839.
Callaway, J. L. *Arch. Derm. & Syphil.*, 1947, 55:257.
Chakravarti, D. N., and Tyagi, N. N. *Ind. Med. Gaz.*, 1937, 72:367.
Dold, H. *Arch. f. Schifts. u. Tropen. Hyg.*, 1918, 22:365; *ibid.*, 1919, 23:472.
Elrod, R. P., and Braun, A. C. *J. Bacteriol.*, 1942, 44:633.
Emmerich, R., and Loew, O. *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, 1899, 31:1.
Ferramola, R., and Monteverde, J. J. *Bol. Bras. San Nacion*, Buenos Aires, 1939, 3:272.
Gessard, C. Thèse, Paris, 1882; *Compt. rend. Acad. d. Sc.*, Paris, 1882, 94:536.
Ghéorghiewski. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1899, 13:298.
Ghosh. *J. Ind. Med. Assn.*, 1938, 7:655.
Gough, J., Berry, H., and Still, B. M. *Lancet*, 1944, 2:176.
Hadley, P. *J. Infect. Dis.*, 1924, 34:260.
Howe, C., and Wenstein, L. Citado por Stanley, *Am. J. Med.*, 1947, 2:253.
Jordan, E. O. *J. Exper. M.*, 1899, 4:267.
Joy, H. H. *Arch. Ophthal.*, 1942, 27:1135.
Keeney, M. J. *Calif. & West. Med.*, 1930, 33:502.
Kopper, P. H. *J. Bacteriol.*, 1947, 54:359.
Patty, F. A. *J. Infect. Dis.*, 1921, 29:73.
Sandiford, B. R. *J. Path. & Bacteriol.*, 1937, 44:567.
Schürmayer, B. *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, 1895, 20:281.
Schoental, R. *Brit. J. Exp. Path.*, 1941, 22:137.
Seleen, W. A., and Stark, C. N. *J. Bacteriol.*, 1943, 46:491.
Sonnenschein, C. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt., 1927, 104:365.
Stanley, M. M. *Am. J. Med.*, 1947, 2:253.
Turfitt, G. E. *Biochem. J.*, 1936, 30:1323; *ibid*, 1937, 31:212.
Wassermann, M. *Virchows Arch. f. Path., Anat. u. Physiol.*, 1901, 165:342.
Werede, F. *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, 1930, 111:90.
Wilson, W. J. *Lancet*, 1922, 1:222.

CAPITULO XXXVII

BRUCELLA MELITENSIS, BR. ABORTUS, BR. SUIS Y BRUCELOSIS

Familia: *Parvobacteriaceae* Rahn. Grupo: *Brucelleae* Bergey, Breed y Murray. Género: *Brucella* Meyer y Shaw. Especie tipo: *Brucella melitensis* (Hughes) Meyer y Shaw

La brucelosis es una enfermedad primaria de cabras, vacas y cerdos; el hombre contrae la infección por contacto directo con estos animales o consumiendo leche y productos lácteos. Desde 1945 se han registrado anualmente en los Estados Unidos unos 4 000 casos; un investigador ha estimado que esta cifra debe ser por lo menos de 40 000 casos por año (Evans, 1947).

En Inglaterra se conoció antes de 1567 (Edwards) una forma contagiosa de aborto del ganado. En 1861, en la zona del Mediterráneo, Marston contrajo una enfermedad febril y la descripción de su propio padecimiento hace suponer que estaba sufriendo brucelosis. Una enfermedad febril predominante en la Isla de Malta se conoció como fiebre de Malta. En 1887, Bruce aisló un pequeño organismo gramnegativo, de los soldados británicos estacionados en Malta, más tarde denominado *Micrococcus melitensis*.

Hughes escribió la primera monografía al respecto, en 1897, y propuso el nombre de *fiebre ondulante*, que aun se usa en todas las publicaciones de la Asociación Médica Americana. El mismo año en que apareció la monografía de Hughes, Bang, en Dinamarca, aisló un bacilo gramnegativo de las vacas que habían abortado y lo denominó *Bacillus abortus*. El tercer miembro del grupo, también de forma bacilar, fué obtenido de fetos de abortos de cerdo, por Traum (1914) en Estados Unidos.

En 1918, y nuevamente en 1923, Alice Evans publicó pruebas convincentes de que *Micrococcus melitensis* de las cabras y *Bacillus abortus* de las vacas no podían diferenciarse morfológicamente, ni por sus reacciones de cultivo y bioquímicas, pero que presentaban diferencias antigénicas demostrables por absorción de aglutininas. El microorganismo de los cerdos, de Traum, era idéntico al de Bang, según la técnica de absorción de aglutininas, pero el estudio de otras características reveló que eran diferentes (Huddleson y Abell, 1927). Meyer y Shaw (1920) confirmaron las observaciones de Evans y propusieron el nombre genérico de *Brucella* en honor de David Bruce.

Antes de 1924 se supuso que la brucelosis en Estados Unidos estaba confinada a ciertas zonas de ganado cabrío de Texas, Arizona y Nuevo México, si bien Alice Evans, después de aislar *Brucella* de la leche cruda de Washington, D. C., en 1918, había predicho que las infecciones humanas habían de encontrarse en las regiones del país donde se consumieran grandes cantidades de leche cruda. La predicción de Evans fué confirmada cuando Keefer (1924), en Maryland, aisló brucelas de la sangre de un paciente que nunca había tenido contacto directo o indirecto con cabras. Las publicaciones subsiguientes de Gage y Gregory (1926), Huddleson (1926), Carpenter y Merriam (1926) y otros, demostraron que la infección por *Brucella abortus* era una enfermedad extendida y relativamente común en Estados Unidos.

La brucelosis es endémica en vacas, cabras y cerdos de todo el mundo. También se presentan infecciones ocasionales en caballos, ovejas, mulas, venados, búfalos,

perros, conejos y pollos (Smith, 1948). La brucelosis en los animales domésticos causa grandes pérdidas económicas a los productores por la frecuencia de abortos repetidos en los animales infectados. Las ovejas de Estados Unidos estuvieron, al parecer, libres de la infección hasta 1930, época en que contrajeron la enfermedad de las cabras (Jordan y Borts, 1946).

El hombre es portador potencial de brucelas, aunque poco importante. Shaw (1906) aisló *Brucella* de la orina, en siete trabajadores sanos de establos, y Amoss y Poston (1929) los cultivó de las deyecciones de enfermos y convalecientes.

Es posible que los organismos *Brucella* en un tiempo constituyesen una sola especie, que se ha ido diferenciando en tres por adaptación a cabras, vacas y cerdos. La vaca puede infectarse con cada uno de los tres tipos y transmitir la infección al hombre por la leche. La breve estancia en la vaca no modifica la virulencia o características de cultivo de *Br. melitensis* o *Br. suis;* en Estados Unidos, la mayor parte de brotes explosivos de brucelosis en el hombre han sido causados por el consumo de leche cruda que contenía *Br. suis* (Spink y Hall, 1945; Evans, 1947; Smith, 1948).

FIG. 102. MICROFOTOGRAFÍA ELECTRÓNICA DE BRUCELLA MELITENSIS.

Formas bacilares y cocoides, con pared celular clara alrededor de la forma bacilar. × 20 000. (Con autorización del Dr. Gordon Sharp.)

Morfología y tinción. En los tejidos y en los exudados las tres especies de *Brucella* se ven siempre como cocobacilos muy pequeños. En los primeros aislamientos aparecen en forma cocoide o como mezcla de formas cocoides y bacilares (figura 102). En los subcultivos, *Br. suis* es predominantemente bacilar, *Br. abortus* cambia gradualmente a la forma bacilar, mientras que algunas cepas de *Br. melitensis* pueden conservar sus características cocoides. Los estudios de Huddleson (1940) demostraron que en las tres especies el grosor varía de 0,4 a 0,8 μ; la longitud de *Br. melitensis* varía de 0,4 a 2,2 μ; la de *Br. abortus*, de 0,4 a 2,5 μ y la de *Br. suis*, de 0,6 a 3 μ. Evans y Maitland (1939) describieron cápsulas; sus observaciones fueron confirmadas por Huddleson (1940), en Michigan, y por Mickle (1940) en nuestro propio laboratorio. El microorganismo se tiñe débilmente por los colorantes usuales de anilina mostrando en ocasiones corpúsculos bipolares. Es *gramnegativo, no esporulado* e *inmóvil.*

Características de cultivo. Los microorganismos son *aerobios* o *microaerobios* y se desarrollan mejor a 37° C. en medios ajustados a pH 6,8 a 7,4. En la mayor parte de los casos agudos de brucelosis se pueden cultivar los bacilos de la sangre sin dificultad si se siembra en *caldo de carne, sangre de conejo* o *en caldo-infusión de hígado.* En *placas de agar-sangre vertidas* * las colonias semejan a las de estreptococos viridans (Poston, 1941).

En aislamientos primarios de casos subagudos o crónicos, los microorganismos rara vez se desarrollan en medios sólidos; el desarrollo suele ser insuficiente para

* Se funde el agar contenido en un tubo (8 a 10 c.c.), se deja enfriar a unos 40-45° C., se le añaden 0,5 c.c. de sangre del paciente, se mezclan y se vierten en la placa donde se distribuye homogéneamente por agitación circular. (N. del T.)

enturbiar el medio. En tales casos deben hacerse siembras repetidas con 5 c.c. de muestras centrifugadas del caldo aparentemente estéril, cada 48 horas durante 12 a 14 días. Debido a la presencia de anticuerpos o de otras substancias inhibidoras en la sangre del paciente interesa hacer las siembras con pequeño volumen de sangre. En nuestro laboratorio añadimos 2 c.c. de sangre citratada del paciente a 100 c.c. de caldo. Se pueden sembrar hasta 10 c.c. de sangre citratada en el medio combinado de agar y caldo descrito por Castañeda (1947). Si se cultiva en medio sintético que tenga glucosa y sales inorgánicas, los organismos requieren amida de ácido nicotínico, tiamina, ácido pantoténico y biotina (McCullough y Dick, 1943). Añadiendo al medio una mezcla de aminoácidos, no son precisas todas las vitaminas (Koser y Wright, 1942; McCullough y Dick, 1942). En medios sólidos las colonias son redondas, hemisféricas, lisas y opacas, de color blanquecino o crema obscuro.

No producen *ni ácido, ni gas*, cuando se desarrollan en medios con *carbohidratos*. Los *nitratos* son reducidos a *nitritos* y *no se forma indol*. Las tres especies producen *ácido sulfhídrico* en grado variable según indica la tabla siguiente (Huddleson y Abell, 1927; Huddleson, 1939). Las cepas danesas de *Br. suis*, sin embargo, no producen sulfhídrico, o muy poco (Thomsen, 1934).

Requerimiento de CO_2. Br. abortus no se desarrollará en el primer aislamiento, a menos que se incube en una atmósfera con 10% de CO_2. Como se ignora la especie de *Brucella* que infecta al paciente, deben sembrarse placas y caldo por duplicado y una de las series se incubará en atmósfera con tensión aumentada de CO_2.

Inhibición selectiva por colorantes. Se ha demostrado que el desarrollo de *Br. suis* se inhibe por la fucsina básica, y el de *Br. abortus* por tionina, según se demuestra en la tabla siguiente (Meyer y Zobell, 1932; Huddleson, 1939).

DIFERENCIACIÓN DE ESPECIES DEL GÉNERO BRUCELLA

	Requerimiento de CO_2	Producción de SH_2 — Días				Utilización de glucosa	Inhibición de desarrollo **	
		1	2	3	4		Tionina	Violeta de metilo. Fucsina básica o pironina
Brucella melitensis	—	—	—	—	—	+	—	—
Brucella abortus	+ *	3 +	2 +	1 +	1 +	±	+	—
Brucella suis	—	4 +	4 +	4 +	4 +	+	—	+

* Las cepas de laboratorio que han llegado a ser aerobias no requieren CO_2 para el aislamiento desde los animales inoculados.

** Para lograr la diferenciación deben usarse las diluciones especificadas de los colorantes.

Resistencia. Los organismos del género *Brucella* mueren rápidamente por los antisépticos usuales o por la pasteurización de la leche y productos lácteos. Permanecen viables en la leche conservada en la nevera durante diez días. En el queso de Roquefort, por dos meses; en la mantequilla en la nevera, durante cuatro meses. Se han cultivado estos microorganismos de bazos de cerdo después de 30 días de exposición a temperaturas de 23,5° C. y después de 45 días en carne curada en salmuera (Huddleson, Johnson y Hamann, 1932).

Estos organismos son moderadamente susceptibles a las sulfonamidas, pero aparecen pronto cepas resistentes en el paciente tratado con dosis inadecuadas. La *penicilina* no tiene acción bacteriostática, pero la *estreptomicina* los inhibe en concentraciones de 0,5 a 3,75 microgramos por c.c. de cultivo líquido.

Variabilidad. Las brucelas presentan el fenómeno de la variación usual S a R, si bien el cambio en la colonia es gradual. En las colonias R aparecen bacilos largos y aun formas filamentosas. Hay una pérdida gradual que acaba por ser completa, de la aglutinabilidad específica conforme los organismos cambian de la forma S a la R. Las formas R aglutinan espontáneamente en solución salina fisiológica y en el suero de individuos normales; probablemente son idénticas a las cepas llamadas

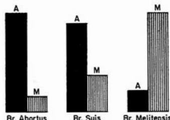


FIG. 103. REPRESENTACIÓN DIAGNÓSTICA DE LA ESTRUCTURA ANTIGÉNICA DE LAS ESPECIES BRUCELLA.

(De la investigación de Miles, 1939.)

antiguamente paramelitensis. Conforme a la tendencia actual de la terminología, las cepas capsuladas estudiadas por Huddleson (1940) y Mickle (1940) deben designarse como formas mucoides (M). Braun, en 1946, hizo un estudio detallado de los tipos de variación M, S y R.

Metabolitos bacterianos. Producen amoníaco en cantidades variables. *Br. suis* produce una cantidad apreciable de *catalasa*, mientras que *Br. abortus* sólo sintetiza indicios de esta enzima (Huddleson y Stahl, 1943).

Endotoxinas. Las lipoproteínas de los organismos *Brucella* son moderadamente tóxicas para los animales. No producen *exotoxinas*.

Estructura antigénica. Los estudios de cepas S de *Brucella*, recién aisladas, hechos por absorción de aglutininas, han demostrado que las tres especies de *Brucella* contienen dos antígenos, designados A y M (Wilson y Miles, 1932). *Br. abortus* contiene unas veinte veces más A que M, mientras que *Br. melitensis* tiene aproximadamente veinte veces más M que A (Miles, 1939), lo cual permite diferenciarlas; *Br. suis*, de tipo antigénico intermedio, es más difícil de caracterizar por absorción de aglutininas (fig. 103).

Huddleson y sus colaboradores (1939) han aislado cantidades variables de proteínas inactivas, polisacáridos y lípidos de las tres especies de *Brucella*. Las investigaciones de Wise y Craig (1942), en nuestro laboratorio, han demostrado que los polisacáridos de las brucelas, brucelina y brucealergeno, estimulan la formación de anticuerpos fijadores de complemento inyectados intravenosamente a conejos o intracutáneamente a estudiantes de Medicina sanos.

La parte proteínica de la núcleoproteína (Huddleson, 1939) es específica de grupo y, al parecer, muy parecida o idéntica a las núcleoproteínas de *H. pertussis* y *H. bronchisepticus* (Parfentjev, 1947).

Infección espontánea de los animales. La brucelosis es endémica en muchos rebaños de ganado cabrío, vacuno y porcino. Otros animales, como ovejas, caballos, mulos, venados, búfalos, perros, conejos y pollos pueden adquirir la enfermedad por contacto con manadas de ganado infectado (Katz, 1941). Fuera del aborto, la infección en los animales produce pocos síntomas y casi nunca causa la muerte; vacas aparentemente sanas pueden eliminar los microorganismos en su leche. Los animales se infectan probablemente por ingestión de alimento que ha sido contaminado con brucelas. Las vaquillas jóvenes son notablemente resistentes a la infección por exposición natural o por inyección de grandes dosis de organismos virulentos. Con el primer embarazo, sin embargo, se hacen muy susceptibles a la infección espontánea.

Los animales enfermos suelen tener un título elevado de aglutininas en su suero. El aislamiento y matanza de los animales infectados ha dado por resultado dejar a muchos rebaños libres de brucelosis.

Enfermedad experimental en animales de laboratorio. Los monos, que se pueden infectar fácilmente con *Br. suis* o *Br. melitensis*, y en ocasiones con *Br. abortus*, presentan fiebre de tipo ondulante, pero la enfermedad rara vez es progresiva. Hay lesiones en los ganglios linfáticos y en el bazo (Huddleson, 1939). La inyección intrapleural, subcutánea o intravenosa de *Brucella* a cobayos produce una infección que al principio progresa, pero después regresa lentamente conforme aparecen aglutininas y anticuerpos fijadores del complemento. Los animales se hacen hipersensibles a las proteínas de los organismos *Brucella;* esta alergia persiste durante meses después del restablecimiento.

Cuando las siembras directas en medios de cultivo no han desarrollado, en ocasiones se pueden obtener cultivos mediante *paso por cobayo*. La sangre, el líquido cefalorraquídeo o la pulpa de ganglios linfáticos u otros tejidos deben inocularse intraperitonealmente, mientras que los tejidos que comúnmente están contaminados deben introducirse subcutáneamente. Después de dos a tres semanas pueden aparecer aglutininas en el suero; si los animales mueren se pueden hacer cultivos de la sangre y del bazo en la forma corriente (Poston, 1941).

Los conejos muestran buena producción de anticuerpos, pero se infectan con menor facilidad que los cobayos. Los ratones y las ratas son relativamente resistentes.

La inoculación de la membrana corioalantoide del embrión de pollo en evolución causa la muerte de éste en pocos días. Los microorganismos se desarrollan *intracelularmente; Br. melitensis* elige las células ectodérmicas, mientras que *Br. abortus* y *Br. suis* prefieren multiplicarse en células de origen mesodérmico como el endotelio vascular (Goodpasture y Anderson, 1937; deRopp, 1944).

Tipos clínicos de infección en el hombre. El hombre es muy sensible a la infección por brucelas, como lo demuestran los numerosos casos resultantes de infecciones accidentales de laboratorio (Meyes y Eddie, 1941; Smith, 1948). Por fortuna la mayor parte de las infecciones adquiridas naturalmente son subclínicas, como se comprueba por el descubrimiento de aglutininas y cutirreacciones positivas al brucealergeno en porcentajes relativamente elevados de grupos diversos de población. Menefee y Poston (1939) encontraron que 11,3 por ciento de 1 122 estudiantes de la Universidad de Duke presentaban cutirreacciones positivas o seroaglutininas, y ninguno tenía antecedentes de enfermedad febril que pudiera diagnosticarse de bru-

celosis. Jordan y Borts (1947) encontraron positiva la prueba cutánea en el 10 al 25 por ciento de los grupos investigados en Iowa.

La brucelosis puede dividirse clínicamente en tres tipos: agudo, subagudo y crónico; todos pueden ser producidos por cualquiera de las tres especies de *Brucella*.

La brucelosis aguda suele empezar de manera insidiosa después de 10 a 14 días de incubación. Después de ingerir leche infectada, el período de incubación puede ser tan corto como cuatro días y tan largo como un mes (Huddleson, 1940; Smith, 1948). En los experimentos en voluntarios humanos dirigidos por Morales-Otero en Puerto Rico (1929), dos pacientes presentaron la enfermedad 10 a 17 días después de ingerir los cultivos y en seis pacientes las manifestaciones clínicas aparecieron 10 a 16 días después que los microorganismos penetraron por fricción en la piel escarificada.

Los casos agudos de brucelosis suelen recuperarse espontáneamente, después de uno a tres meses. El tipo de fiebre ondulante descrito por Hughes en la isla de Malta es raro en Estados Unidos. Los hemocultivos suelen ser positivos durante las dos o tres primeras semanas de la enfermedad y se hacen negativos a medida que los pacientes forman aglutininas, anticuerpos fijadores de complemento y opsoninas. Durante las recurrencias, características de esta enfermedad, los hemocultivos pueden hacerse de nuevo positivos, aun cuando exista un título elevado de anticuerpos. En la mayor parte de los pacientes aparecen cutirreacciones positivas a las vacunas inactivadas por el calor y las pruebas cutáneas al brucealergeno se hacen positivas entre la tercera y la sexta semana de la enfermedad. Cuando aparece, esta *alergia* suele persistir durante muchos años (Smith, 1948).

La brucelosis subaguda puede seguir a la fase aguda de la infección y puede ser más o menos grave que la infección primaria. Los hemocultivos son positivos con menor frecuencia, pero generalmente se encuentran anticuerpos y el paciente presenta hipersensibilidad al microorganismo.

La forma crónica de la enfermedad puede durar de 1 a 20 años. Los síntomas son leves pero persistentes y molestos. Los hemocultivos rara vez son positivos, excepto durante las exacerbaciones muy agudas de la enfermedad. Se pueden reconocer dos tipos de brucelosis crónica, aunque algunos casos no se pueden clasificar en una ni otra categoría. El *tipo hipersensible* demuestra una buena producción de anticuerpos y también un alto grado de *alergia*. El *tipo anérgico* presenta, en forma característica, una cutirreacción negativa al microorganismo y no se pueden demostrar anticuerpos en la sangre. El diagnóstico sólo puede establecerse por cultivo de la sangre, bilis, deyecciones o ganglios linfáticos (Poston, 1941) o de los materiales obtenidos por punción del hígado (Hoffbauer y Spink, 1947).

Pueden aparecer lesiones locales en la *piel* (Huddleson, 1940), *boca* (Poston y Menefee, 1938), *ojos* (Rutherford, 1935; Rudemann, 1941), *pulmones* (Haden y Kyger, 1946), *ganglios linfáticos* (Bloomfield, 1942), *bazo* (Spink y Hall, 1945), *vías biliares* (Amoss y Poston, 1929), *vértebras* (Spink y Hall, 1945), *articulaciones* (Green y Freyberg, 1941), *meninges y cerebro* (Smith, 1948), *genitales masculinos* (Simpson, 1930), y *femeninos* (Carpenter y Boak, 1931). Muchos de los casos mortales de brucelosis han resultado por infección de las *válvulas del corazón*, produciendo un tipo subagudo de endocarditis bacteriana (Spink y Hall, 1945).

En casos raros se han descrito abortos en mujeres y se han cultivado microorganismos *Brucella* de la placenta (Carpenter y Boak, 1931).

La mortalidad entre los soldados británicos estacionados en la isla de Malta fué alrededor de 2,3 por ciento. En Estados Unidos la mortalidad, en las infecciones registradas, es de un 2 por ciento; la mayor parte de los casos mortales fueron

causados por *Br. suis* (Simpson, 1941). Las infecciones más peligrosas son las que se acompañan de endocarditis o meningoencefalitis.

Productos biológicos. Se han preparado sueros antibacterianos por hiperinmunización de vacas que se habían restablecido espontáneamente de la infección, pero los resultados clínicos con estos sueros han sido desalentadores.

El suero humano de convaleciente se ha administrado por vía intrarraquídea para tratamiento de la meningitis por *Brucella* (Poston y Smith, 1936).

Pueden prepararse en el laboratorio vacunas inactivadas por el calor para cutirreacciones y desensibilización, pero deben valorarse muy cuidadosamente para evitar la producción de lesiones necróticas en la piel, consecutivas a la inoculación intracutánea, o reacciones generales intensas después de inyección subcutánea.

Vacuna de Brucella (N. N. R.). Se halla en el comercio para cutirreacción y desensibilización. Debe hacerse una cutirreacción preliminar con diluciones al 1:100 ó 1:10 para determinar el grado de sensibilidad. Foshay ha producido una vacuna destoxicada que da pocas reacciones (1940).

Huddleson y sus colaboradores han obtenido dos productos biológicos llamados *brucelina* y *brucealergeno* (Huddleson, 1940). El brucealergeno se usa para la prueba cutánea preliminar y la brucelina para la desensibilización. Ninguno de ellos es capaz de producir inmunidad en el hombre o en el animal, pero ambos estimulan la producción de aglutininas, anticuerpos fijadores de complemento y opsoninas en pacientes que hayan tenido una infección por brucelas. Para valorar el estado de inmunidad del paciente, por lo tanto, es importante hacer estudios serológicos antes de practicar pruebas cutáneas con vacunas, brucealergeno o brucelina. *

Transmisión. La brucelosis se presenta en regiones donde los abortos del ganado vacuno o porcino son endémicos o donde consumen leche cruda y productos lácteos de rebaños de cabras infectadas. Sin duda alguna, la invasión directa por la mucosa intestinal constituye el modo de infección más común. No obstante, los cuidadores de ganado, agricultores y veterinarios se infectan con frecuencia a través de la piel por contacto con los tejidos vivos o muertos de animales infectados. En condiciones poco usuales los organismos pueden ser inhalados a los pulmones; así, Meyer y Eddie (1941) han logrado infectar monos obligándolos a inhalar polvo que contenía *Br. melitensis*.

La brucelosis ocurre muy raramente en ciudades y poblaciones donde casi toda la leche se suministra pasteurizada. Los habitantes de tales ciudades, por no haber tenido la oportunidad de lograr una inmunidad adquirida por infecciones subclínicas, son muy sensibles a la enfermedad; el consumo de un solo vaso de leche cruda en período de vacaciones ha dado lugar a muchos casos de enfermedad.

En los Estados productores de cereales, donde se mantienen grandes piaras de cerdos, *Br. suis* es la especie encontrada predominantemente en clínica (Jordan y Borts, 1946). En los Estados productores de leche, como Minnesota y Nueva York, la infección con *Br. abortus* es el tipo que prevalece. En Carolina del Norte, los tres tipos son transmitidos con leche de vacas infectadas, y *Br. suis* y *Br. melitensis* se encuentran casi con tanta frecuencia como *Br. abortus*, si bien la frecuencia anual de brucelosis registrada en dicho Estado sólo es de 0,4 por 100 000, en contraste con 5,31 en Iowa (Jordan y Borts, 1947).

Tratamiento. La duración de la fase aguda de la brucelosis se acorta apreciablemente por el tratamiento con *sulfonamidas*. Sin embargo, los casos subagudos,

* La escuela mexicana del profesor M. R. Castañeda ha preparado un antígeno denominado M. B. P. (iniciales de melitensis, Bang y porcina), que se compone de las tres especies de *Brucella: melitensis, abortus* y *suis*, a partes iguales, desintegradas y suspendidas en solución de mertiolato. Se utiliza para diagnóstico en la prueba cutánea y para tratamiento desensibilizante. Los autores han publicado resultados interesantes. (N. del T.)

crónicos y aun los agudos, rara vez, si acaso, mejoran con sulfonamidas, a menos que los pacientes tengan aglutininas en suero (Smith, 1948).

La *estreptomicina* cura la brucelosis experimental en los cobayos, si se administra poco después de la infección (Live, Sperling y Stubbs, 1946). Finch (1947) publicó resultados excelentes logrados con estreptomicina en seis pacientes de brucelosis aguda. Pulaski y Amspacher (1947) y Hall y Spink (1947) observaron poca mejoría con la estreptomicina sola, pero obtuvieron mejores resultados con la combinación de estreptomicina y sulfonamidas. El paciente con endocarditis por brucelas debe tratarse con ambas medicaciones, sulfonamidas y estreptomicina. Uno de tales pacientes, tratado por Hall y Spink (1947), estuvo libre de síntomas durante dos meses y medio.

Varios casos de meningitis por *Brucella* se han recuperado después de inyección intrarraquídea de suero humano de convaleciente (Poston y Smith, 1936; Smith, 1948). A los pacientes con meningitis debe administrárseles sulfonamidas, estreptomicina y suero.

Los tipos de brucelosis subagudo y crónico que tienen buena producción de anticuerpos y sensibilidad intensa a la proteína del microorganismo suelen mejorar con la desensibilización (Simpson, 1941; Harris, 1946; Smith, 1948). *

Prevención. La pasteurización de la leche y productos lácteos debe proteger a la mayor parte de individuos de la brucelosis, excepto aquellos cuya ocupación los pone en contacto directo con animales infectados o con cultivos. Claro está, se aconseja descubrir, aislar y, eventualmente, matar a los animales infectados de brucelosis.

La inmunización activa es aconsejable para ganaderos, agricultores, veterinarios y trabajadores de laboratorio que manejan cultivos de *Brucella*.

Live y colaboradores (1945) descubrieron que los antígenos obtenidos por desintegración sónica de microorganismos *Brucella* eran superiores a las vacunas inactivadas por el calor, en la inmunización de cobayos, pero no han sido ensayados en el hombre. Kolmer, Bondi y Rule (1940) han publicado excelentes resultados obtenidos en el hombre con inmunización simultánea contra brucelosis y fiebre tifoidea por la administración de una vacuna compuesta de 1 000 millones de *S. typhosa* muertos por el calor e igual número de *Br. abortus* y *Br. suis*. La vacuna fué administrada subcutáneamente en dosis de 0,5, 1 y 1 c.c. con intervalos semanales. Las reacciones no fueron más intensas que las observadas con la administración de la vacuna tifoparatífica.

BIBLIOGRAFIA

AMOSS, H. L. *Internat. Clinic*, 1931, 4:93.
——— and POSTON, M. A. *J.A.M.A.*, 1929, 93:170.
———, POSTON, M. A., and LEAVELL, H. R. *J.A.M.A.*, 1930, 95:860.
BANG, B. *J. Comp. Path. & Therap.*, 1897, 10:125.
BANG, O., and BENDIXEN, H. C. *Internat. Dairy Congress* (Edición inglesa), 1931, 2:124.
BLOOMFIELD, A. L. *Am. Rev. Tuberc.*, 1942, 45:741.
BRAUN, W. J. *J. Bacteriol.*, 1946, 51:327; *ibid.*, 1946, 52:243.
BRUCE, D. *Practitioner*, London, 1887, 39:161; 1888, 40:241.
——— *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1893, 7:289.
——— EYRE, y col. Mediterranean Fever Commission Report, London, 1905-1907. Citado de Duncan, J. T., y col., *A System of Bacteriology in Relation to Medicine*, London, 1930, 5:386.
CARPENTER, C. M. *J. Infect. Dis.*, 1926, 39:220.
——— *J. Am. Vet. M. Ass.*, 1927, 70:459.
——— *J.A.M.A.*, 1931, 96:1212; 1932, 99:296.
——— and BOAK, R. A. *Am. J. M. Sc.*, 1933, 185:97.

* Véase el apéndice sobre antibióticos.

—— and BOAK, R. *J.A.M.A.*, 1931, 96:1212.
—— and MERRIAM, H. E. *J.A.M.A.*, 1926, 87:1269.
CASTAÑEDA, M. R. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1947, 64:114.
DEROPP, R. S. *J. Comp. Path. & Therap.*, 1944, 54:53.
EDWARDS, J. T. *Vet. Rec.*, 1921, 33:721, 739.
EISELE, C. W. *Med. Clin. N. America*, 1947, 31:182.
EVANS, A. C. *J. Wash. Acad. Sci.*, 1915, 5:122.
—— *J. Infect. Dis.*, 1918, 22:580.
—— *U. S. Pub. Health Rep.*, 1923, 38:1948.
—— Nomenclature of the Melitensis—Abortus Group, etc., *U. S. Pub. Health Rep.*, 1923, p. 3.
—— *U. S. Pub. Health Rep.*, 1923, 28:23, 1923, 28:825. 1924, 29:501.
—— *J.A.M.A.*, 1927, 88:630.
—— *Am. J. Pub. Health*, 1947, 37:139.
—— *U. S. Pub. Health Rep.*, 1938, 53:1507.
—— and BAUMGARTNER, L. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1938, 53:1507.
EVANS, D. G., and MAITLAND, H. B. *J. Path. & Bacteriol.*, 1939, 48:67.
FINCH, G. H. *Am. J. Med.*, 1947, 2:485.
FOSHAY, L. Capítulo sobre "Brucellosis" en *Modern Medical Therapy in General Practice*, Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1940.
GAGE, E. E., and GREGORY, D. A. *J.A.M.A.*, 1926, 37:848.
GREEN, M. E., and FREYBERG, R. H. *Am. J. Med. Sci.*, 1941, 201:495.
GOODPASTURE, E. W., and ANDERSON, K. *Am. J. Path.*, 1937, 13:149.
HADEN, R. L., and KYGER, E. R. *Cleveland Clin. Quart.*, 1946, 13:220.
HALL, W. H., and SPINK, W. W. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1947, 64:403.
HARRIS, H. J. *J.A.M.A.*, 1946, 131:1485.
HOFFBAUER, F. W., and SPINK, W. W. *J. Lab. & Clin. Med.*, 1947, 32:315.
HOWE, C., MILLER, E. S., KELLY, E. H., BOOKWALTER, H. L., and ELLINGSON, H. V. *New Eng. J. Med.*, 1947, 236:741.
HUDDLESON, I. F. *J.A.M.A.*, 1926, 86:943.
—— *J. Am. Vet. M. A.*, 1940, 96:708.
—— *Brucellosis in Man and Animals*, The Commonwealth Fund, Oxford Univ. Press, New York, 1939.
—— and ABELL, E. *J. Bacteriol.*, 1927, 13:13.
——, JOHNSON, H. W., and HAMANN, E. E. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1932, 36:16.
—— and STAHL, W. H. *Tech. Bull. Mich. Agric. Exp. Sta.*, 1943, 182:57.
—— and PENNELL, R. B. *Science*, 1939, 90:571.
HUGHES, M. L. *Mediterranean, Malta or Undulant Fever*, Macmillan & Co., London, 1897.
JORDAN, C. F., and BORTS, I. H. *J.A.M.A.*, 1946, 130:72.
—— and BORTS, I. H. *Am. J. Med.*, 1947, 2:157.
KATZ. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1941, 99:24.
KEEFER, C. S. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1924, 35:6.
KOLMER, J. A., BONDI, A., JR., and RULE, A. M. *J. Infect. Dis.*, 1940, 67:258.
KOSER, S. A., and WRIGHT, M. H. *J. Infect. Dis.*, 1942, 71:86.
LEAVELL, H. R., POSTON, M. A., and AMOSS, H. *J.A.M.A.*, 1930, 95:860.
LIVE, I., SPERLING, F. G., and STUBBS, E. L. *J. Infect. Dis.*, 1945, 775:16.
—— SPERLING, F. G., and STUBBS, E. L. *Am. J. Med. Sci.*, 1946, 211:267.
MARSTON, J. A. *Great Brit. Army Med. Dept. Repts.*, London, 1861.
MCCULLOUGH, N. B., and DICK, L. A. *J. Infect. Dis.*, 1942, 71:193, 198.
—— and DICK, L. A. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1943, 52:310.
MENEFEE, E. E., JR., and POSTON, M. A. *Am. J. Med. Sci.*, 1939, 197:646.
MEYER, K. F., and EDDIE, B. *J. Infect. Dis.*, 1941, 68:24.
—— and SHAW, E. B. *J. Infect. Dis.*, 1920, 27:173.
—— and ZOBELL, C. E. *J. Infect. Dis.*, 1932, 51:72.
MICKLE, W. A. *J. Infect. Dis.*, 1940, 66:271.
MILES, A. A. *Brit. J. Exper. Path.*, 1939, 20:63.
MORALES-OTERO, P. M. *Puerto Rico J. Pub. Health & Trop. Med.*, 1929, 5:144.
—— *J. Infect. Dis.*, 1933, 52:54.
—— and GONZÁLEZ, L. M. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1939, 40:10.
PARFENTJEV, I. A., GOODLINE, M. A., and VIRION, M. E. *J. Bacteriol.*, 1947, 53:597, 603, 613.
POSTON, M. A. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1938, 53:7.
—— *J. Lab. & Clin. Med.*, 1941, 26:1961.
—— and MENEFEE, E. E. JR. *New Eng. J. Med.*, 1938, 219:796.
—— and SMITH, D. T. *New Eng. J. Med.*, 1936, 215:269.
PULASKI, E. J., and AMSPACHER, W. A. *Bull. U. S. Army Med. Dept.*, 1947, 7:221.
RUDEMANN, A. D. *Cleveland Clin. Quart.*, 1941, 8:59.
RUTHERFORD, C. W. *J.A.M.A.*, 1935, 104:1490.
SHAW, E. A. *Repts. Brit. Med. Fever Comm.*, 1905-07, Pt. IV, p. 16.

——— *J. Roy. Army Med. Corps*, 1906, 6:638.
SIMPSON, W. M. *Ann. Int. Med.*, 1930, 16:471.
——— *Ann. Int. Med.*, 1941, 15:408.
SMITH, D. T. Capítulo sobre "Brucellosis" en Nelson's *Loose Leaf System of Medicine*, 1948, en prensa.
SPINK, W. W., and HALL, W. H. *Med. Clin. North Am.*, 1945, 29:343.
THOMSEN, A. *Medlemsblad f. Den danske Dryaegeforening*, 1932, 44:401.
——— *Acta Path. et Microbio. Scandinavica*, 1934, Supple. 21.
——— *Office Int. des Epizooties* (Paris), 1937.
TRAUM, J. *U. S. Dept. of Agric. Repts.*, Bur. Animal Indus., 1914, p. 30.
WILSON, G. S., and MILES, A. A. *Brit. J. Exper. Path.*, 1932, 13:1.
WISE, B., and CRAIG, H. W. *J. Infect. Dis.*, 1942, 70:147.

CAPITULO XXXVIII

PASTEURELLA TULARENSIS Y TULAREMIA

Familia: *Parvobacteriaceae* Rahn. Grupo: *Pasteurelleae* Castellani y Chalmers. Género: *Pasteurella* Trevisan. Especie: *Pasteurella tularensis* (McCoy y Chapin) Bergey y col.

La tularemia, enfermedad de conejos, liebres, roedores y aves, es transmitida, de animal a animal, por moscas, pulgas, piojos y garrapatas. En la actualidad, se conoce la enfermedad en el hombre en Norteamérica, Europa, Rusia y Japón y probablemente se encuentre en otras partes del mundo. En Estados Unidos se registran de 2 000 a 3 000 casos humanos cada año, con una mortalidad de 5 por ciento aproximadamente. El hombre es huésped accidental y terminal.

Francis (1925) refiere que un oftalmólogo, de nombre Martin, reconoció la enfermedad en Arizona, en 1907. El microorganismo, descrito primero por McCoy en 1911 y aislado por McCoy y Chopin en 1912, de una enfermedad del "tipo de la peste", en ardillas en el condado de Tulare, California, fué denominado *Bacterium tularense* por el territorio donde fué descubierto. McCoy, sin embargo, no asoció la infección con la enfermedad clínica en el hombre. Vail y Wherry y Lamb, en 1914, registraron casos aislados de infección humana, pero las investigaciones en serie comenzadas por Francis en 1919 nos han proporcionado la mayor parte de los conocimientos básicos, tanto acerca del organismo como de la enfermedad clínica. Francis contribuyó con el nombre *tularemia*, indicador de la capacidad del organismo para invadir la sangre y producir infección generalizada.

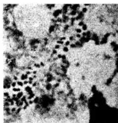


FIG. 104. PASTEURELLA TULARENSIS.

En frotis de medula ósea de conejo americano muerto al quinto día. × 2 280. (Army Medical Museum. Con autorización de Edward Francis, U.S.P.H.S.)

Morfología y tinción. *Pasteurella tularensis* es en extremo pleomórfico. En el citoplasma de las células hepáticas de ratones infectados experimentalmente aparecen gran número de formas cocoides diminutas. Los frotis de medula ósea de conejos infectados muestran formas cocoides y pequeñas formas bacilares cortas (fig. 104). Sin embargo, rara vez se encuentran formas reconocibles morfológicamente en los tejidos de pacientes muertos de tularemia.

En los cultivos se presentan ambas formas, ovoides y bacilares, con promedios de tamaño de 0,2 a 1 μ de ancho y 1 a 3 μ de longitud (fig. 105). Estudios cuidadosos de frotis hechos de cultivos, revelan que con frecuencia aparecen formas en pesas de gimnasia, en habichuela, en L, como espermatozoides, globoides nudosas y también cuerpos raros y cocoides (fig. 106). Los estudios de Hesselbrock y Foshay (1943) indican que estas estructuras ocurren en cultivos jóvenes en desarrollo activo y son diferentes de las formas clásicas de involución encontradas tan frecuentemente

en cultivos viejos, desecados, de bacterias. Foshay y sus colaboradores (1945) han demostrado una serie de pequeñas formas cocoides que presentan graduaciones de tamaño entre organismos fácilmente visibles y otros bastante pequeños para pasar a través de filtros Berkefeld, con diámetros de 300 a 350 milimicras, determinados por filtración con membranas de *gradicol* de Elford. La viabilidad de estas formas diminutas fué comprobada por inoculación al ratón. Estas unidades reproductivas mínimas se demuestran en las micrografías electrónicas de Eigelsbach y colaboradores (1946), que presentan organismos de 100 a 300 milimicras de tamaño.

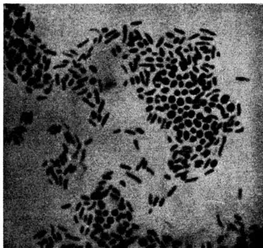


FIG. 105. PASTEURELLA TULARENSIS.

De un cultivo en agar-cistina-glucosa; véanse formas cocoides y bacilares en un mismo campo. Aprox. × 5 000. (Army Medical Museum. Con autorización de Edward Francis, U.S.P.H.S.)

Se han descrito cápsulas en las formas cocoides, pero las investigaciones de Hesselbrock y Foshay indican que estas estructuras *no son verdaderas cápsulas*, sino *paredes celulares extremadamente gruesas*. No se ha observado división binaria. La *gemación* es el mecanismo principal de reproducción (Hesselbrock y Foshay, 1943).

Los investigadores japoneses (Ohara y col., 1935; Ota, 1936; Ohara, 1940) describieron "flagelos" y "motilidad", pero una revisión de sus trabajos y nuevo estudio del problema por Hesselbrock y Foshay demuestran que *Past. tularensis* es *inmóvil* y los aparentemente "buenos flagelos" son filamentos adheridos en un extremo a un cuerpo cocoide (fig. 106).

Past. tularensis se tiñe débilmente por los colorantes usuales de anilina y es netamente *gramnegativo.*

Reacciones de cultivo. *Past. tularensis* es *aerobio* estricto. Se puede desarrollar entre 24° y 39° C. con máximo a 37° C. y pH de 6,9. Como los iones fosfato inhiben el desarrollo del organismo, debe usarse hidróxido de sodio para ajustar el pH del medio.

El organismo fué aislado originalmente por McCoy y Chapin (1912) en un medio de yema de huevo casi seco. Francis (1922) encontró que la *cistina* de la yema de huevo era esencial para el desarrollo del microorganismo e ideó un medio con sangre, glucosa y cistina que se ha mantenido como clásico durante muchos años. Investigaciones posteriores demostraron que la *tiamina* podía reemplazar en parte el extracto de glóbulos rojos (O'Kane, 1946).

La substitución de cistina por cisteína aumentaba el desarrollo, pero como la cisteína es inestable deben usarse los medios inmediatamente después de su preparación (Snyder y col., 1946). Sin embargo, Downs y col. (1947) comprobaron que las placas de agar preparadas con hidrocloruro de cisteína se podían conservar en la nevera durante tres semanas sin alteración. Se ha preparado un medio líquido que contiene cisteína como substituto de la cistina (Snyder y col., 1946; Downs y col., 1947).

En 1941, Buddingh y Womack encontraron que *Past. tularensis* se desarrollaba en las células de la membrana corioalantoidea, embrión y saco vitelino del pollo. Estudios posteriores han demostrado que el desarrollo es mayor en el saco vitelino y menor en el embrión. En realidad el organismo se desarrolla igualmente bien en el saco vitelino de embriones muertos que de embriones vivos (Ransmeier, 1943; Larson, 1945; Downs y col., 1947a).

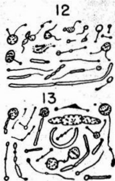


FIG. 106. DIBUJO DE UN CULTIVO RECIENTE DE PAST. TULARENSIS, CON FORMAS RARAS Y SEUDOFLAGELOS.

(Según Hesselbrock y Foshay, *J. Bacteriol.*, 1943, 49:209.)

Cepas avirulentas para los ratones rara vez mataban el embrión de pollo; si bien los pasos repetidos de huevo a huevo aumentaban la virulencia para el embrión de pollo, no se observó un aumento correspondiente para los ratones.

Después de un período de incubación de 24 a 48 horas aparecen en el medio de sangre-glucosa-cistina o cisteína colonias pequeñas, lisas, opacas, de consistencia mantecosa (fig. 107). Un organismo que se desarrolla en agar simple o en caldo simple no es *Past. tularensis.* Es algo sorprendente que las cepas no virulentas y las relativamente avirulentas tengan las mismas formas de colonia y la misma estructura antigénica que las cepas virulentas (Downs y col., 1947a).

Los estudios de Francis sobre fermentación fueron hechos incorporando la substancia problema y un indicador a un medio sólido (Francis, 1942). Los resultados de Francis deben ser comprobados utilizando el nuevo medio líquido. *Past. tularensis* fermenta la *glucosa, maltosa* y *manosa,* produciendo *ácido sin gas. No fermenta* la *lactosa, sacarosa, xilosa, manita, salicina, inulina, sorbita* ni la *ramnosa.* Se obtuvieron resultados irregulares con glicerina, levulosa y dextrina (Francis, 1942).

Resistencia. Los organismos no sobreviven mucho en cultivos viejos; por lo tanto, deben transferirse cada tres o cuatro días. Los cultivos liofilizados pueden ser viables después de cuatro años (Miller, 1946). En 1932, Francis publicó sus estudios sobre la conservación de organismos viables en tejidos animales. Al conservar en glicerina pura, neutra, no diluída, bazos de cobayos infectados se encontró que había organismos viables durante un mes a la temperatura de la habitación, seis meses a 10° C. y seis años a —14° C. Cuando se congelaron a —14° C. tejidos de conejos infectados se encontraron organismos virulentos en el hígado después de seis meses, en el bazo después de un año y en el cerebro y medula espinal después de dieciocho meses. Los hígados y bazos infectados no deben conservarse en el mismo recipiente. Cuando los organismos se mantienen por subcultivos sufren una pérdida gradual de virulencia. Esta se puede mantener indefinidamente por inyecciones semanales de cobayos con bazos infectados glicerinados conservados a —14° C.

Past. tularensis fué obtenido de las heces secas de chinches, 26 días después de haber sido infectadas experimentalmente. Sin embargo, no está demostrado que la chinche transmita la enfermedad o llegue a infectarse en condiciones normales.

Una solución de tricresol al 1 por ciento, actuando durante dos minutos, desinfecta las emulsiones de tejido esplénico infectado. Los organismos de los cultivos son destruídos en 24 horas por formol al 0,1 por ciento.

Una temperatura de 56° a 58° C. mata a los organismos de los cultivos de pulpa esplénica en unos diez minutos. Los tejidos infectados de aves y animales de caza se pueden hacer inofensivos por cocción adecuada.

Algunos compuestos *sulfonamídicos* y el ácido paraaminobenzoico (Tamura, 1944) inhiben el desarrollo de *Past. tularensis in vitro*, pero ni las sulfonamidas ni la penicilina son eficaces en el tratamiento de la tularemia. Afortunadamente, el microorganismo es en extremo sensible a la *estreptomicina* tanto *in vitro* como *in vivo*. La estreptomicina inhibe a *Past. tularensis* en concentraciones de 0,15 a 2 microgramos por c.c. de cultivo líquido.



FIG. 107. CULTIVO DE PASTEURELLA TULARENSIS EN AGAR-CISTINA-GLUCOSA.

A la izquierda, siembra con sangre de corazón de cobayo; nótese la presencia de colonias. A la derecha, siembra con sangre de corazón de ratón; nótese la ausencia de colonias. (Army Medical Museum. Con autorización de Edward Francis, U.S.P.H.S.)

Metabolitos bacterianos. *Past. tularensis* no produce *exotoxina* y los filtrados de cultivos jóvenes *no contienen endotoxina*. Sin embargo, las *proteínas* y *lipoproteínas* de los organismos muertos son netamente *tóxicas* cuando se inyectan al hombre o a los animales.

Estructura antigénica. Parece haber un solo tipo antigénico de *Past. tularensis*. El antígeno estimula la producción de altas concentraciones de anticuerpos en el hombre y en los animales; se han encontrado aglutininas en los sueros humanos 20 años después de la infección.

Past. tularensis comparte un antígeno común con los miembros del género *Brucella*. Los conejos inmunizados con uno y otro organismo pueden aglutinar al otro a bajo título. La absorción de aglutininas elimina las aglutininas comunes, pero no las responsables de la especificidad de especie. Los pacientes con tularemia tienen ocasionalmente aglutininas de bajo título para *Brucella* y viceversa (Francis y Evans, 1926). No obstante, esta aglutinación cruzada rara vez es causa de dificultad en el laboratorio clínico, por los altos títulos que produce el organismo al iniciar la infección específica. Francis y Evans han visto algunos casos con títulos altos de aglutininas tanto para *Brucella* como para *Past. tularensis*, y nosotros hemos tenido una experiencia similar. Como ambas enfermedades son endémicas en el sureste de EE. UU., hemos interpretado este hallazgo como infección aguda por un microorganismo en un paciente que previamente fué infectado por el otro.

Foshay (1936) extrajo de los cultivos de *Past. tularensis* un polisacárido soluble específico que dió una precipitinorreacción positiva con sueros de pacientes infectados. Resultó antigénico inyectado en cabras jóvenes, y dió lugar a la formación de precipitinas, no de aglutininas. Cuando se inyectaron intracutáneamente pequeñas cantidades del polisacárido a pacientes con tularemia, algunos dieron la reacción inmediata de tipo papuloso que Tillet y Francis observaron con la inyección del polisacárido específico de neumococo en pacientes con neumonía.

Foshay (1932) observó que las proteínas bacterianas de *Past. tularensis* daban reacciones locales y generales intensas en animales y pacientes infectados con dicho germen, pero solamente reacciones locales de moderada intensidad en el hombre y animales normales. El antígeno fué suficientemente destoxicado con ácido nitroso, de modo que pudiera ser usado en cutirreacciones. La dosis del *antígeno de proteína bacteriana de Foshay* es de 0,01 c.c., inyectado intracutáneamente. La reacción evoluciona lentamente, alcanza tamaño máximo en 48 a 72 horas y persiste por 5 ó 6 días. Se hace positiva durante la primera semana de la enfermedad, generalmente antes de la aparición de aglutininas y, al parecer, persiste durante toda la vida. Los pacientes que mueren de tularemia pueden hacerse *anérgicos* y, en consecuencia, dar reacciones negativas.

En 1936, Foshay introdujo un segundo tipo de prueba cutánea, la *reacción del anticuerpo sérico de Foshay*, probablemente específica por la presencia del polisacárido soluble específico en los tejidos del paciente. La prueba consiste en inyectar por vía intracutánea 0,04 c.c. de suero obtenido de una cabra inmunizada con *Past. tularensis*. Debe inyectarse como testigo una cantidad igual de suero de cabra normal. La reacción positiva es del tipo de pápula y eritema; aparece en 15 a 20 minutos y desaparece después de 30 a 60 minutos. Los sueros de cabras inyectadas con el polisacárido soluble de *Past. tularensis* dieron la reacción tan rápidamente como los sueros preparados por inyección de los microorganismos íntegros. La reacción suele hacerse positiva 3 ó 4 días después del comienzo de la enfermedad, antes que la reacción con el antígeno de proteína bacteriana sea positiva y mucho antes de la aparición de aglutininas. La prueba puede volver a ser negativa si se inyecta al paciente suero inmune (Foshay, 1936). Esta reacción también sigue siendo positiva durante años después de la curación, indicando probablemente la persistencia de *Past. tularensis* en el cuerpo. Es difícil pensar en un mecanismo de inmunidad que suprima al microorganismo y todavía permita una producción suficiente de polisacáridos solubles para que la reacción sea positiva.

Infección espontánea en los animales. Se han observado infecciones espontáneas en los siguientes animales: ardillas en California y Utah; conejos silvestres y liebres por todos los Estados Unidos (fig. 108); ratas silvestres de Los Angeles;

ratones silvestres de California; codornices, gallinas silvestres y faisanes en Minnesota; ovejas en Idaho; castores en Utah; conejos silvestres en el Japón, Noruega y Canadá; ratas de agua en Rusia; carcomas en California, Montana y Minnesota. Muchos otros animales son sensibles a la infección en grado variable. La enfermedad se transmite de un animal a otro por picadura de mosca, pulga, piojo o garrapata. La mosca más importante en la transmisión de la enfermedad es la de los venados, *Chrysops discalis*. Tres especies de garrapatas son de la mayor importancia para mantener la enfermedad en los animales y transmitir la infección al hombre. Éstas son: *Dermacentor andersoni*, *D. variabilis* y *D. occidentalis*. En la garrapata, los microorganismos pasan por vía de los ovarios a los huevos, a través de las fases larva y ninfa y, finalmente, a las garrapatas adultas que transmiten la infección

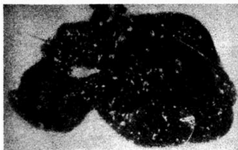


FIG. 108. TULAREMIA.
Hígado de conejo con lesiones focales. (Army Medical Museum. Con autorización de Edward Francis, U.S.P.H.S.)

(Green, 1943; Bell, 1945; Borroughs y col., 1945). Las garrapatas que han sido alimentadas sobre aves de caza con frecuencia son portadoras de cepas de *Past. tularensis* menos virulentas que las llevadas por las garrapatas que se han infectado de los conejos (Green, 1943). No está demostrado que no ocurran infecciones adquiridas naturalmente en conejos domésticos.

Enfermedad experimental en los animales de laboratorio. Un solo microorganismo *Past. tularensis* de una cepa de alta virulencia puede producir una infección mortal en el ratón, conejo, cobayo o el roedor denominado *hamster*. La susceptibilidad del mono es igual a la del hombre. Ratas, gatos, ovejas, cabras, perros y pollos son más resistentes. Caballos, vacas, cerdos, zorras y palomas no se infectan (Downs y col., 1947b).

Tipos clínicos de infección en el hombre. Se han descrito seis tipos clínicos de tularemia: 1) úlceroganglionar; 2) óculoganglionar; 3) ganglionar; 4) tífico; 5) pulmonar; 6) por ingestión.

El tipo *úlceroganglionar* es la forma clínica más frecuente y de mejor pronóstico. Los microorganismos son retenidos a nivel de la lesión local durante días, quizá como resultado mecánico de la inflamación local, lo cual permite que el paciente produzca cuerpos de inmunidad. La lesión primaria suele ocurrir en dedos o manos,

como resultado de contacto con sangre de aves u otros animales infectados. Por lo general hay arañazos o cortes macroscópicos, pero el microorganismo puede invadir la piel intacta. Después de 3 ó 4 días aparece una pápula, seguida de una úlcera abierta hacia el séptimo u octavo día. Al tiempo que aparece la úlcera ha tenido lugar una infección extensa de los ganglios linfáticos de la región. En los casos raros en que ocurre la ulceración de los ganglios linfáticos, aparece un cuadro clínico que no puede distinguirse del causado por el hongo *Sporotrichum schenckii*.

El tipo *óculoganglionar* se origina por salpicadura de una gota de sangre infectada en el ojo o por restregarse el ojo con un dedo contaminado. Hay ulceración local de la conjuntiva, con inflamación de los ganglios regionales (Wherry y Lamb, 1914; Siniscal, 1946). El pronóstico es casi tan favorable como en la forma úlceroganglionar.

La forma *pulmonar primaria* de la enfermedad puede resultar de la inhalación de gotitas de material infectado. Como la mayor parte de los pacientes con infección pulmonar primaria, y un gran porcentaje de los que sufren participación pulmonar secundaria, mueren, es una suerte que esta forma de la enfermedad sea rara.

En algunos casos de tularemia úlceroganglionar y óculoganglionar, los microorganismos atraviesan los ganglios linfáticos para causar un cuadro clínico de *septicemia* (Ransmeier y Schaub, 1941; Larson, 1945) o de *meningitis* (David y Owens, 1944).

Las otras formas de la enfermedad son raras, pero casi siempre mortales por invasión generalizada del organismo; tiene lugar una infección abrumadora antes que los mecanismos de inmunidad puedan entrar en acción.

Las características clínicas de la tularemia han sido revisadas por Foshay (1940) y Pullen y Stuart (1945). Ashburn y Miller (1945) publicaron los datos de necropsia de un paciente que murió de una infección de laboratorio y revisaron los hallazgos necrópsicos en otros 72 casos de tularemia.

Aunque el *diagnóstico* suele ser claro por la historia del paciente, en muchos casos ésta no corresponde o es causa de confusión. El microorganismo no se puede identificar en los frotis de las lesiones, ni se desarrolla en los medios usados para hemocultivo, pero se puede cultivar en el medio de cistina-glucosa-sangre (Ransmeier y Schaub, 1941). Los cobayos se pueden infectar sin dificultad con exudados y tejidos. La sangre del paciente debe diluirse con igual cantidad de solución salina fisiológica; se inyectarán intraperitonealmente a un cobayo de 4 a 8 c.c. de la mezcla. *Past. tularensis* se puede cultivar sin dificultad a partir del cobayo infectado.

Debe subrayarse el peligro de manejar animales infectados y cultivos virulentos de *Past. tularensis*. *Muchos técnicos de laboratorio han llegado a infectarse y en gran número han muerto de tularemia.* El laboratorio corriente debe limitar sus esfuerzos diagnósticos al uso de la cutirreacción de Foshay y al examen serológico de aglutininas. Para la prueba de aglutinación debe usarse un cultivo formolado de una cepa virulenta, o un cultivo vivo no virulento. Las cutirreacciones suelen ser positivas al final de la primera semana de la enfermedad; las aglutininas aparecen de 10 a 14 días después de la infección. Un título de aglutininas de 1:20 ó 1:40 no es concluyente, pero los valores crecientes en exámenes sucesivos tienen valor diagnóstico. No son raros títulos de 1:2 560 ó 1:5 120 en la tercera y cuarta semanas de la enfermedad.

Transmisión. Los casos de tularemia adquiridos por picaduras de moscas suelen observarse en julio y agosto. En cualquier tiempo de marzo a noviembre puede haber garrapatas portadoras de tularemia (Waring y Ruffin, 1946). Sin embargo, son los conejos los receptáculos principales de la infección. Se ha estimado que el uno

por ciento de todos los conejos silvestres están infectados, y que el 90 por ciento de todos los casos de tularemia son adquiridos de este animal; el 70 por ciento provendrían de una sola especie de conejo americano, *Sylvilagus floridamus* (Jellison y Parker, 1945). El máximo de infecciones ocurre en diciembre, en el auge de la estación de caza. Los cazadores, traficantes de conejos y amas de casa que limpian los animales, son las víctimas más comunes.

La tularemia puede aparecer como consecuencia de mordeduras de reptiles y otros animales que no tienen la enfermedad, pero que albergan los microorganismos en su boca por haber comido conejos infectados. Se han referido casos de tularemia de este tipo después de la mordedura de gatos, perros, ardillas, zarigüeyas, zorras y serpientes no venenosas (Meyer, 1947).

En Rusia y Turquía se han publicado epidemias de origen hídrico.

Past. tularensis se ha encontrado en corrientes de agua donde hubo epidemias de tularemia entre castores (Jellison y col., 1942) y en lagunas en el Canadá (Bow y Brown, 1944), pero en Estados Unidos no se han registrado epidemias de origen hídrico.

Productos biológicos. La proteína bacteriana destoxicada de Foshay y el suero antibacteriano del mismo autor dan cutirreacciones positivas durante la primera semana de enfermedad clínica; sin embargo, a menos que el paciente dé primero reacción negativa seguida de positiva, ésta no se considera diagnóstica porque los casos curados dan reacción positiva durante muchos años.

El suero antibacteriano de Foshay acorta el curso de la tularemia y ha salvado muchas vidas, pero desde la introducción de la estreptomicina casi no se emplea.

Se dispone en el comercio de antígenos bacterianos formolados para las pruebas cutáneas.

Tratamiento. Se han obtenido buenos resultados con el tratamiento de la tularemia por la *estreptomicina.* Pacientes casi moribundos han sido curados con dosis diarias de 0,5 a 1 g.

Un diagnóstico de presunción basado en la historia o en una cutirreacción positiva, o la sospecha de tularemia justifica el uso de la estreptomicina. No debe esperarse el resultado de un cultivo positivo o la presencia de aglutininas en sangre para empezar el tratamiento. La estreptomicina no inhibe la formación de aglutininas (Atwell y Smith, 1946; Hunt, 1947; Morgan, 1947; Foshay, 1947).

Prevención. Deben incinerarse o enterrarse los conejos que sean alcanzados por perros y gatos. Los cazadores deben recelar de conejos *perezosos* que son cazados fácilmente; deben usarse guantes de goma para limpiar y aderezar los animales.

Un ataque de la enfermedad deja inmunidad para toda la vida. La inmunización activa, por lo tanto, es teóricamente posible. El antígeno destoxicado preparado por Foshay (1942) para inmunización profiláctica proporciona inmunidad, mayor o menor, para la tularemia. La vacuna de acetona, preparada durante la segunda Guerra Mundial, es eficaz para las ratas, pero no para ratones. Hasta el momento no se ha determinado su valor en el hombre (Downs y col., 1947b). Deben llevarse a cabo pruebas de protección serológica para determinar la eficacia de la vacunación profiláctica (Larson, 1947b).

BIBLIOGAFIA

Ashburn, L. L., and Miller, S. E. *Arch. Path.*, 1945, 39:388.
Atwell, R. J., and Smith, D. T. *South. Med. J.*, 1946, 39:858.
Bell, J. F. *J. Infect. Dis.*, 1945, 76:83.
Bow, M. R., and Brown, J. H. *Canad. Med. J.*, 1944, 50:14.
Buddingh, G. J., and Womack, F. C., Jr. *J. Exper. M.*, 1941, 74:213.

BURROUGHS, A. L., HOLDENRIED, R., LONGANECKER, D. S., and MEYER, K. E. *J. Infect. Dis.*, 1945, 76:115.
DAVID, J. K., JR., and OWENS, J. N. *Am. J. Dis. Child.*, 1944, 67:44.
DOWNS, C. M., CORIELL, L. L., CHAPMAN, S. S., and KLAUBER, A. *J. Bacteriol.*, 1947(a), 53:89.
———, CORIELL, L. L., PINCHOT, G. B., MAUMENEE, E., KLAUBER, A., CHAPMAN, S. S., and OWEN, B. *J. Immunol*, 1947(b), 56:217, 229, 245.
EIGELSBACH, H. T., CHAMBERS, L. A., and CORIELL, L. L. *J. Bacteriol.*, 1946, 52:179.
FOSHAY, L. *J. Infect. Dis.*, 1932, 51:286.
——— *J. Allergy*, 1935, 6:360.
——— *J. Infect. Dis.*, 1936, 59:330.
——— *Medicine*, 1940, 19:1.
———, HESSELBROCK, W. H., WITTENBERG, H. J., and RODENBERG, A. H. *Am. J. Pub. Health*, 1942, 32:1131.
——— and HESSELBROCK, W. H. *J. Bacteriol.*, 1945, 49:233.
——— *Am. J. Med.*, 1947, 2:467.
FRANCIS, E. *Medicine*, 1928, 7:411.
——— *U. S. Pub. Health Rep.*, 1921, 36:1731; 1923, 38:1396; 1927, 42:2763; 1932, 47:1287; 1933, 48:1127.
——— Proc. 4th Internat. Congress of Entomology, 1928, 2:929.
——— U. S. Hyg. Lab. Bull., 1922, Nº 130.
——— *J.A.M.A.*, 1925, 84:1243; 1928, 91:1155.
——— *De Lamar Lectures*, Johns Hopkins University, Baltimore, 1927.
——— En *Cecil's Textbook of Medicine*, 1937, 4th ed., p. 350.
——— *J. Bacteriol.*, 1942, 43:343.
——— and EVANS, A. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1926, 41:1273.
———, LILLIE, R. D., and PARKER, R. R. *The Pathology of Tularemia.* Bull. Nº 167, National Institute of Health, Washington, D. C., 1937.
——— and MAYNE, B. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1921, 36:1738.
——— and MOORE, D. *J.A.M.A.*, 1926, 86:1329.
FREESE, H. L. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1926, 41:369.
GRANSTRÖM, K. O. *Acta Ophth.*, 1932, 10.
GREEN, R. G. *Am. J. Hyg.*, 1943, 38:282.
HESSELBROCK, W. H., and FOSHAY, L. *J. Bacteriol.*, 1943, 49:209.
HUNT, J. S. *Ann. Int. Med.*, 1947, 26:263.
JELLISON, W. L., KOHLS, G. M., BUTTLER, W. J., and WEAVER, J. A. *Am. J. Hyg.*, 1942, 36:168.
——— and PARKER, R. R. *Am. J. Trop. Med.*, 1945, 25:349.
LARSON, C. L. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1947a, 62:1793, *ibid.*, 1947b, 62:1793.
——— *U. S. Pub. Health Rep.*, 1945, 60:587, 863 y 1049.
LEDINGHAM, J. C. G., and FRASER, F. R. *Quart. J. Med.*, 1924, 17:365.
MARTIN, A. *Southwest. Med.*, 1925, 9:232.
MCCOY, G. W. U. S. Pub. Health Bull., 1911, Nº 43.
——— and CHAPIN, C. W. *J. Infect. Dis.*, 1912, 10:61.
MEYER, K. F. *Cecil's Textbook of Medicine*, 7th ed., p. 274, W. B. Saunders, Philadelphia, 1947.
MILLER, R. P. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1946, 61:1084.
MORGAN, H. J. *Ann. Int. M.*, 1947, 27:519.
OHARA, H., KOBAYASHI, T., and KUDO, J. *Tohoku J. Exper. M.*, 1935, 25:520.
——— *Proc. Third Internat. Cong. Microbiol.*, 1940, p. 678.
O'KANE, D. J. *J. Bacteriol.*, 1946, 51:559.
OTA, I. *Kokumin Eisei*, 1936, 13:207.
PULLEN, R. L., and STUART, B. M. *J.A.M.A.*, 1945, 129:495.
RANSMEIER, J. C. *J. Infect. Dis.*, 1943, 72:86.
——— and SCHAUB, I. G. *Arch. Int. Med.*, 1941, 68:747.
SINISCAL, A. A. *Am. J. Ophthal.*, 1946, 29:698.
SNYDER, T. L., ENGLEY, F. B., JR., PENFIELD, R. A., and CREASY, J. C. *J. Bacteriol.*, 1946, 52:241.
TAMURA, J. T. *J. Bacteriol.*, 1944, 47:529.
TILLETT, W. S., and FRANCIS, T. *J. Exper. M.*, 1930, 52:561.
VAIL, D. T. *Ophth. Rec.*, 1914, 23:487.
WARRING, W. B., and RUFFIN, J. S., JR. *New Eng. J. Med.*, 1946, 234:137.
WHERRY, W. B., and LAMB, B. H. *J. Infect. Dis.*, 1914, 15:331.

CAPITULO XXXIX

PASTEURELLA PESTIS Y PESTE

Familia: *Parvobacteriaceae* Rahn. Grupo: *Pasteurelleae* Castellani y Chalmers. Género: *Pasteurella* Trevisan. Especie: *Pasteurella pestis* (Lehmann y Neumann) Holland. Sin.: *Bacillus pestis*

PASTEURELLA PESTIS Y PESTE

La historia de las enfermedades epidémicas no tiene capítulo más terrible que el de la peste (Hirsch, 1881). Pasando aterradoramente una y otra vez por grandes zonas del mundo civilizado, su alcance y mortalidad, en muchas ocasiones, fueron tan grandes, que todas las formas de la actividad humana quedaron temporalmente paralizadas. En el reinado de Justiniano, casi el 50 por ciento de la población total del imperio romano pereció de la enfermedad. La "muerte negra", que barrió a Europa durante el siglo catorce, mató alrededor de veinticinco millones de personas. Pequeñas epidemias que aparecieron en numerosas partes del mundo durante los siglos dieciséis, diecisiete y dieciocho originaron innumerables víctimas. En 1893 la peste apareció en Hong Kong. Durante la epidemia que siguió, *Pasteurella pestis*, ahora reconocido como causa de la enfermedad, fué descubierto por Kitasato y Yersin, independientemente el uno del otro. Ambos observadores pudieron encontrar invariablemente el bacilo en el pus de los bubones de los enfermos. El microorganismo pudo demostrarse en número enorme en los cadáveres. El papel etiológico quedó de manifiesto por las infecciones accidentales ocurridas en Viena en 1898 con cultivos de laboratorio.

La peste, primitivamente, es enfermedad de ratas y roedores silvestres y se transmite de un animal a otro por las picaduras de las pulgas infectadas; el hombre puede ser un huésped accidental. Sin embargo, puede producirse peste de tipo *neumónico* y diseminarse la enfermedad de hombre a hombre por gotitas, sin insecto vector. La figura 109 muestra la distribución geográfica de *Past. pestis*. En algunas regiones del mundo la rata es el principal portador; en otras, la infección es llevada por roedores silvestres, pero hay zonas en donde alojan y diseminan la infección tanto las ratas como otros roedores.

Entre 1900 y 1944 se han registrado en Estados Unidos 504 casos de peste; el 63 por ciento de los infectados murieron (Lahnum, 1946). La peste ha sido registrada en trece de los Estados del Oeste y en Texas, Louisiana y Florida. En todas las zonas de Estados Unidos donde la peste ha sido encontrada en el hombre se ha descubierto un reservorio entre los roedores silvestres.

La poca probabilidad de que puedan eliminarse los bacilos de la peste del vasto reservorio de los roedores silvestres, constituye un problema de la mayor importancia para el epidemiólogo, ya que siempre se encontrará con la posibilidad de que el bacilo de la peste se extienda desde los roedores silvestres a las ratas que viven en zonas densamente pobladas en las partes central y oriental de los Estados Unidos.

Morfología y tinción. *Past. pestis* es un bacilo corto y grueso que mide 0,5 a 0,7 μ de ancho y 1,5 a 1,75 μ de largo. Los bacilos suelen estar aislados o en pares.

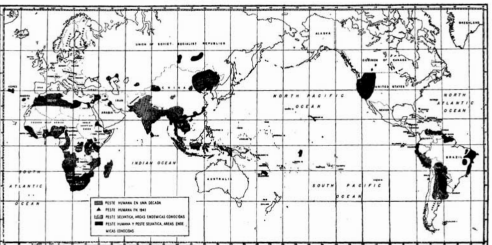


Fig. 109. Distribución geográfica de la peste.
(De Army Institute of Pathology, Nº 73355.)

pero a veces forman cadenas cortas de tres o más organismos (fig. 110). El *pleomorfismo* es extremo en los cultivos viejos (fig. 111); se puede inducir la producción de estas formas raras cultivando los organismos alrededor de veinticuatro a cuarenta y ocho horas en agar común al que se ha añadido 3 por ciento de cloruro sódico.

Past pestis tiene cápsula en el organismo animal y en los cultivos jóvenes (Sokhey, 1940). El microorganismo es *inmóvil* y *no esporulado*. El bacilo es *gramnegativo* y presenta tinción polar. Esta tinción irregular se ve mejor en frotis dejados secar al aire y fijados con alcohol. Las coloraciones policromáticas son excelentes para demostrar el microorganismo en cortes de tejidos.

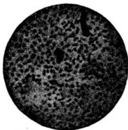


Fig. 110. Pasteurella pestis. (Según Mallory y Wright.)

Características de cultivo. *Past. pestis* es *aerobio*, pero también *anaerobio facultativo*. Los microorganismos se destruyen rápidamente cuando el desarrollo en superficie sobre agar común se expone a presión parcial de oxígeno que exceda del 1 por ciento (Wright, 1934). Las placas de agar-sangre son más adecuadas para aislamiento primario que el agar común, porque los microorganismos se desarrollan bien en este medio en condiciones atmosféricas ordinarias, aun a partir de muy pequeñas cantidades de material (Wright, 1934).



Fig. 111. Pasteurella pestis mostrando formas de involución. (Según Zettnow.)

Los límites de temperatura para el desarrollo son extremos; varían de 0° C. a 43° C. El desarrollo es cinco veces más profuso a 28° ó 29° C. que a 37° C., pero se logra un buen crecimiento particularmente en agar-sangre a 37° C.

Hay un desarrollo bastante bueno entre pH 6,6 y pH 8,0, pero la zona óptima está entre pH 7,2 y pH 7,4 (Sokhey y Habbu, 1943).

En *placas de agar común* o de *agar-sangre* después de incubación de 24 horas, las colonias son pequeñas, redondas, brillantes, transparentes, incoloras y elevadas en el centro. Tienen 0,1 a 0,2 mm de diámetro y una superficie lisa o finamente granular con bordes enteros o delicadamente dentados. No hay hemólisis, pero se observa claramente con tinte moreno de la sangre. Después de incubación de 4 ó 5 días a 37° C. las colonias pueden alcanzar un diámetro de 4 mm y son más opacas, con centro amarillogrisáceo y bordes grisáceos translúcidos. Las colonias son blancas y de consistencia mucoide debido al acúmulo de material capsular.

Después de incubación de 5 a 6 días en *matraz de caldo*, en el que la superficie del medio se cubre con una capa aceitosa, se presenta un desarrollo en *estalactita*. Esta forma de crecimiento es característica, pero no de valor diagnóstico, ya que alguna cepa ocasional de *Past. pestis* no se desarrolla de esta manera y otros organismos pueden presentar también el mismo fenómeno en condiciones similares de cultivo.

Algunas cepas de *Past. pestis* pueden crecer en medio de aminoácidos sin adición de vitaminas; otras requieren ácido nicotínico, tiamina o ambos (Berkman, 1943; Duodoroff, 1943). El desarrollo se acelera por glucosa, glicocola, hematina y cozimasa (Rao, 1939).

Los *nitratos* son reducidos a *nitritos* y se forma una pequeña cantidad de SH_2; *no produce indol; no liquida el suero coagulado ni la gelatina.*

Produce *ácido sin gas* con *glucosa, maltosa, manita* y *salicina* después de incubación de 7 a 14 días. Sin embargo, alguna cepa ocasional no hace fermentar la maltosa. *No fermenta la lactosa.*

Se ha utilizado la fermentación de la glicerina para separar la *raza continental* de *Past. pestis* de la *raza oceánica*. La raza continental que *fermenta la glicerina* aparece en la meseta asiática central, Mongolia y Manchuria, mientras que la raza oceánica que *no fermenta la glicerina* se presenta en la India, Indochina, Java, Japón, Ceilán, Arabia, Madagascar y California. De las 27 cepas sudafricanas estudiadas, 23 pertenecen a la raza oceánica y 4 a la continental (Meyer, 1942).

Resistencia. *Past. pestis* muere en 15 minutos por la acción del fenol al 0,5 por ciento o por una temperatura de 55° C. La luz solar directa destruye al organismo en 4 ó 5 horas; por la simple desecación al aire los bacilos pierden su viabilidad en 2 ó 3 días. Sin embargo, este organismo aparentemente delicado se adapta notablemente bien para la supervivencia en condiciones naturales. En el pus o en el esputo de los pacientes, los microorganismos pueden vivir de 8 a 14 días. Permanecen viables durante 100 días en la sangre de los animales infectados experimentalmente y semanas o meses en los cadáveres. Se conservan en hielo y en nieve por 40 días y durante años en sangre en tubos lacrados, guardados en la nevera. En 1943, Francis publicó que una cepa del microorganismo permaneció viva y virulenta en tubos lacrados de agar-infusión de carne durante veinte años.

La peste neumónica se disemina por gotitas. La supervivencia de los bacilos de la peste en estas gotitas fué estudiada por Teague y Barber (1912) en ocasión de la epidemia de peste neumónica en Manchuria. Los bacilos contenidos en las gotitas expelidas por la tos mueren en pocos minutos si el aire es seco, pero sobreviven mucho tiempo en una atmósfera saturada de humedad. El aire húmedo de las cabañas de los cazadores manchurianos suministra un ambiente ideal para propagación de la peste neumónica.

La *penicilina* no inhibe *Past. pestis* en las dosis comúnmente empleadas en terapéutica. Las *sulfonamidas*, en particular la sulfadiacina, son moderadamente eficaces tanto *in vitro* como *in vivo*. La *estreptomicina* impide el desarrollo del microorganismo en concentraciones de 0,75 a 1,5 microgramos por c.c. de cultivo líquido y ha sido utilizada con éxito tanto en animales infectados experimentalmente como en pacientes con peste.

Variabilidad. En general, las cepas avirulentas de *Past. pestis* tienen colonias algo más rugosas y frágiles que las cepas virulentas, pero no hay relación fija entre las formas de la colonia y la virulencia o estructura antigénica (Jawetz y Meyer, 1943).

Metabolitos bacterianos. Los cultivos de *Past. pestis* producen una *catalasa* y una *ribonucleasa* (Woodward, 1944). En los cultivos aparece un *factor de difusión* y

se produce una *coagulasa* específica para el plasma de conejo, pero no para el de ratones, hombres y cobayos. *No se forma fibrinolisina* (Jawetz y Meyer, 1944).

Past. pestis no produce *exotoxina*, pero se libera una potente *endotoxina* por autólisis de las células bacterianas. La endotoxina tiene poca acción sobre el cobayo, pero Baker y col. (1947) extrajeron una fracción soluble en agua que tenía DL_{50} para los ratones de 20 g de 0,6 microgramos. Esta endotoxina, al parecer, es parte del antígeno somático y cuando se inyecta a conejos induce la formación de anticuerpos antiendotóxicos sin acompañamiento de aglutininas o anticuerpos protectores para los ratones.

Estructura antigénica. *Past. pestis* tiene dos antígenos, uno superficial y otro somático profundo (Schütze, 1932). El antígeno de superficie, que se ha considerado como una cápsula, es mejor probablemente describirlo como antígeno de envoltura. En su estado natural, este antígeno parece ser un complejo carbo-hidrato-proteína del cual se ha aislado una proteína cristalina pura (Baker y col., 1947). Estas substancias no son tóxicas, sino selectivamente antigénicas. Schütze (1932) encontró que el antígeno de envoltura se desarrollaba más rápidamente en cultivos incubados a 37° C. que a 20° C. Este antígeno es termolábil, pero se encuentra tanto en los cultivos virulentos como en los avirulentos, si bien se ha estudiado una cepa avirulenta incapaz de sintetizar el antígeno de envoltura (Schütze, 1929). Los cultivos con antígeno de envoltura bien desarrollados aglutinan rápidamente en sueros inmunes específicos, produciendo agregados coposos, grandes, que recuerdan la aglutinación de tipo H (Wats y col., 1939).

La presencia del antígeno de envoltura termolábil es esencial para la producción de inmunidad activa. Las vacunas preparadas por calentamiento de los microorganismos durante 15 minutos a 100° C. son inútiles; aun el calentamiento moderado a 56° C. durante 30 minutos reduce la eficacia de la vacuna. En Sudamérica y en las Indias Orientales Holandesas se están utilizando para la vacunación profiláctica cultivos vivos, avirulentos, con antígenos de envoltura bien desarrollados (Otten, 1941; Grasset, 1946). El ejército de los Estados Unidos empleó en la segunda Guerra Mundial una vacuna formolada, pero Wayson y col. (1946) han demostrado que, en los animales de experimentación, la vacuna precipitada por alcohol es superior a las de otros tipos, incluyendo la usada por el ejército.

La endotoxina es parte del antígeno somático e induce a la producción de antiendotoxina, pero no de aglutininas ni anticuerpos protectores, cuando se inyecta en conejos (Baker y col., 1947). Lo mismo los cultivos avirulentos que los virulentos producen igual cantidad de endotoxina. Hasta ahora no se conoce un método de análisis antigénico que pueda separar las cepas virulentas de las avirulentas, si bien las cepas virulentas tienen evidentemente un poder invasivo que hasta el momento ha escapado al análisis.

Enfermedad espontánea en los animales. La *peste bubónica* es una enfermedad natural de las ratas u otros roedores, pero la forma que se presenta en los roedores silvestres suele llamarse *peste selvática*. No se sabe si la enfermedad se originó en la rata y se extendió a sus parientes del campo o si los roedores silvestres fueron los huéspedes originales. *Pasteurella pestis* está particularmente bien adaptada para sobrevivir en una población de roedores por virtud de su huésped secundario, la pulga de la rata. La infección se disemina por la picadura de la pulga y rara vez, si acaso, por canibalismo. Treinta y dos especies de pulgas han sido infectadas dejándolas alimentar sobre cobayos en el período terminal de la pueden transmitir la infección (Eskey y Haas, 1940; Meyer, 1942; Douglas y septicemia por *Past. pestis*. Por lo menos trece especies de pulgas norteamericanas

Wheeler, 1943). El mecanismo de transmisión de la peste por la pulga ha sido investigado por Bacot y Martín (1914) para la rata y por Douglas y Wheeler para los roedores silvestres de los Estados del Oeste. La pulga no es infectante inmediatamente después de chupar sangre con *Past. pestis*, pero se vuelve peligrosa en 4 a 19 días. Los bacilos de la peste se multiplican enormemente en el proventrículo de las pulgas, formando una masa obstructiva; subsiguientemente la pulga pica a una nueva víctima y regurgita en la herida la sangre infectada. Muchas pulgas mueren de obstrucción después de 5 a 50 días, pero en otras el coágulo se deshace y las pulgas quedan con capacidad de alimentarse libremente y vivir su vida normal como portadoras de peste. Eskey y Haas (1940) encontraron pulgas infectantes durante 1 a 5 meses. Los estudios de Pirie en Sudáfrica (1927) indican que la pulga explica la persistencia de la peste en una población de roedores.

Si una enfermedad ha de persistir, deben sobrevivir algunas víctimas para perpetuar la especie y debe existir algún mecanismo portador para preservar al organismo infectante entre las epidemias. La mortalidad nunca es del 100 por ciento ni aun en las más violentas epizootias de los roedores, y los supervivientes quedan inmunes. McCoy (1909) encontró algunas ratas en la región de San Francisco y algunas ardillas de los valles circundantes, que eran absolutamente resistentes a la infección experimental, lo cual hace pensar que tengan inmunización por infecciones leves o subclínicas. Las observaciones de McCoy han sido confirmadas y ampliadas por Meyer y sus colaboradores, quienes encontraron ardillas resistentes en regiones donde no se había conocido la peste selvática durante años y han demostrado la existencia de peste inaparente o latente en las ardillas de tierra de California Central (Meyer y col., 1943).

De tiempo en tiempo ocurren fluctuaciones en la virulencia de *Past. pestis*. Es común aislar cepas relativamente avirulentas al final de una epizootia (Williams, 1926; Pirie, 1936). Estas cepas son, desde el punto de vista antigénico y de cultivo, idénticas a los bacilos virulentos y pueden, teóricamente, recuperar su virulencia en condiciones naturales.

Enfermedad experimental en animales de laboratorio. Las ratas y los cobayos son en extremo susceptibles a *Past. pestis;* 3 a 50 microorganismos inician una septicemia en 24 a 48 horas y matan en dos a ocho días. Los ganglios linfáticos aumentan de volumen y se rodean de tejido edematoso rico en sangre, mientras que el centro de los ganglios presenta rápidamente necrosis. El bazo es de color rojo oscuro, muy aumentado de volumen y suele contener focos necróticos muy pequeños. Se encuentran lesiones extensas en los pulmones de los animales que sobreviven más de cinco días. Los ratones son casi tan susceptibles como las ratas. El conejo es algo más resistente; los perros, gatos, cerdos, vacas, ovejas, cabras y caballos son muy resistentes. Las diferentes especies de monos varían de sensibilidad; algunas son susceptibles como el hombre, mientras otras son tan resistentes como el conejo.

Past. pestis suele penetrar por la piel intacta de un cobayo; esta técnica se puede usar para aislar los bacilos de la peste en material muy contaminado con otros organismos.

Los cobayos se inoculan rápidamente por picadura de una pulga infectada; el método más eficaz para determinar si quedan pulgas infectadas en una zona determinada, consiste en exponer una jaula de cobayos.

Tipos clínicos de infección en el hombre. Las infecciones producidas en el hombre por *Pasteurella pestis* se pueden clasificar en tres tipos clínicos, que se conocen como *peste bubónica, septicémica* y *neumónica.*

La forma *bubónica* es la más común. Las pulgas infectadas suelen picar las extremidades inferiores y los bacilos de la peste difunden rápidamente por los linfáticos y producen adenitis de la ingle. Estos ganglios aumentados de volumen son conocidos como *bubones*. En estos bubones los bacilos de la peste se multiplican en proporción enorme, causan necrosis local y forman abscesos. El microorganismo atraviesa los ganglios, invade la corriente sanguínea y produce infección generalizada. Los hemocultivos pueden ser positivos en el primero, segundo y tercer día de la enfermedad en el 75 por ciento de los pacientes (Huang y Chu, 1946). Se desarrollan focos secundarios en diversas partes del cuerpo como el bazo, los pulmones y las meninges.

A la invasión masiva de la corriente sanguínea acompañada de pequeñas hemorragias en piel y mucosas se le llama *peste septicémica*.

La *peste neumónica* se produce cuando se inhalan los bacilos en gotitas de saliva hasta los pulmones. Los bacilos difunden rápidamente por los linfáticos hasta interesar todo el pulmón en un proceso neumónico, hemorrágico y el paciente muere por asfixia. Por supuesto, la cianosis es extrema en los últimos períodos de la enfermedad, lo que probablemente explica el nombre de *muerte negra* que se aplicó a la peste que se extendió por Europa en el siglo catorce. El esputo mucosanguinolento está lleno de bacilos que se expelen con la tos en gotitas, pero no parecen expulsarse con la respiración o conversación ordinarias. Cuando las condiciones atmósfericas son favorables, p. ej., con aire saturado de humedad, la enfermedad difunde directamente de hombre a hombre en proporción aterradora. En la epidemia de peste neumónica de Manchuria en 1910-1912 hubo 60 000 muertos.

El mecanismo por el cual las epidemias de peste bubónica se convierten en epidemias de peste neumónica no está bien esclarecido. Con frecuencia ocurren neumonías incidentales secundarias a la septicemia y de tiempo en tiempo los pacientes empiezan a expeler con la tos gotitas que contienen bacilos de la peste. Si las demás condiciones asociadas son satisfactorias, se establece la forma neumónica primaria de la enfermedad.

Castellani y Chalmers (1919) estimaron que alrededor del 2,5 por ciento de los casos de peste bubónica originados por las pulgas de las ratas evolucionan a la forma neumónica de gran mortalidad.

La *peste selvática*, transmitida por la pulga de los roedores silvestres, difiere en algunos detalles de la peste clásica transmitida por la pulga de la rata. Estas pulgas suelen picar más bien las extremidades superiores y los bubones originales pueden estar más bien en las axilas que en la ingle. Además, la peste de origen selvático, con frecuencia cambia a la variedad neumónica. La epidemia de peste neumónica de Manchuria se originó a partir de los roedores silvestres; en la epidemia de Los Angeles de 1923-24, de los 23 casos 18 fueron del tipo neumónico.

El *diagnóstico* se puede establecer por los frotis de esputo o material de los bubones o por cultivo de los bacilos a partir de la sangre de las lesiones locales.

La *inmunidad* se desarrolla bastante rápidamente en quienes viven los primeros siete días de enfermedad, pero los títulos de aglutininas permanecen bajos y en los sueros de tales pacientes no aparecen muchos anticuerpos protectores. Como los sueros de los individuos normales no aglutinan el bacilo de la peste, un título de 1:10 o más alto tienen valor diagnóstico. Después de restablecerse de la peste el paciente queda permanentemente inmune; según las investigaciones de Jawetz y Meyer (1944) y Bhatnagar y Shrivastava (1946), la inmunidad parece ser más de tejidos que humoral. Los anticuerpos de los antígenos de envoltura, sin embargo, parecen ayudar a los fagocitos mononucleares a captar los bacilos.

La mortalidad de la peste de tipo neumónico es de 100 por ciento; la de la forma bubónica sólo es del 70 al 90 por ciento. Parece que el pequeño retraso ocasionado por la filtración mecánica de los bacilos a través de los ganglios linfáticos permite tiempo suficiente para que algunos individuos produzcan anticuerpos bastantes para vencer la infección.

Transmisión. Las grandes epidemias de peste en el hombre han ido precedidas de epidemias de peste en las ratas. Por lo general, las dos epidemias se superponen de modo que las calles se llenan de ratas muertas, y las casas, de víctimas de la peste. Al morir las ratas, las pulgas infectadas y hambrientas se ven forzadas a buscar al hombre para alimentarse. Tres especies de ratas viven en estrecha relación con el hombre: la rata gris común de las alcantarillas, *Rattus norvegicus;* la rata negra casera y de los barcos, *R. rattus*, y la rata egipcia, *R. rattus alexandrinus*. La pulga de rata de la India, *Xenopsylla cheopis*, es el distribuidor más eficiente de la peste, si bien se transmite fácilmente por la pulga de rata común de Europa y Norteamérica, *Nosopsyllus fasciatus*.

La rata negra es la más peligrosa, porque prefiere andar en los áticos de las casas y, cuando mueren de peste, sueltan sus pulgas, que invaden el hogar. La rata gris vive en alcantarillas, establos y depósitos de basura y rara vez anida por encima del primer piso de las viviendas. Se cree que la rata negra llegó a Europa en los barcos que volvían de las Cruzadas. Resultó un huésped excelente para la peste durante la gran epidemia de la Edad Media. Posteriormente, la rata gris, más feroz, invadió desde el Norte y destruyó casi completamente las ratas negras (Zinsser, 1935). Se ha dicho que este cambio en el tipo de rata ha hecho probablemente, a este respecto, más que ningún otro factor para que desapareciese la peste en Europa.

Creel (1913) ha subrayado la importancia de exterminar las ratas en EE. UU., no sólo porque son huéspedes potenciales de peste, sino también por las graves pérdidas económicas ocasionadas por sus depredaciones. Según los cálculos de Creel, la población de ratas iguala a la población humana; estimando el costo anual del alimento de una rata en medio centavo de dólar por día, la pérdida económica por destrucción injustificada excede de $167 000 000 por año.

La *peste selvática* ocurre en muchas partes del mundo, como indica la figura 109. Los roedores silvestres rara vez causan epidemias extensas, pero proporcionan una fuente constante de reinfección para las ratas. Los huéspedes roedores más importantes son el jerbo en Sudáfrica, el tarbagán en Transbaikalia, el espermófilo en Rusia y las ardillas de tierra en el oeste de EE. UU. Los roedores que con mayor frecuencia se infectan con bacilos de la peste en el oeste de EE. UU. son las ardillas de tierra de diversas especies, ardillas trepadoras, ardillas voladoras, marmotas, perros llaneros o de las praderas, ratas del bosque, ratas de agua, y ratones, liebres y conejos y tejones (Eskey y Haas, 1940; Zentner, 1942; Meyer, 1942; Lahnum, 1946).

Generalmente se supone que la pandemia de peste que siguió a la epidemia de Hong Kong en 1894 alcanzó San Francisco en 1900 y se extendió desde las ratas de San Francisco a los roedores de las montañas del Oeste. Esta idea ha sido puesta en duda por Meyer (1942) quien cree que la difusión de la peste en los roedores puede ser anterior a la llegada de Colón y de las ratas.

El hecho de que en EE. UU. no haya habido una epidemia de peste de importancia debe atribuirse al trabajo enérgico del Servicio de Sanidad Pública del país bajo la dirección eficiente de Ruper Blue, McCoy, Curry, Wherry y sus sucesores.

De todo lo dicho respecto a la transmisión de la enfermedad resulta evidente que la prevención de la peste depende del exterminio de las ratas y de la protección contra las pulgas. Es importante vigilar la mortalidad entre las ratas en los centros endémicos para descubrir precozmente los focos en roedores. Las precauciones internacionales se basan en una cuarentena contra las ratas que se pueden transportar fácilmente y que han sido llevadas de un país a otro por barcos y ferrocarril. La desinfección de barcos con anhídrido sulfuroso por medio del aparato de Clayton y por el ácido cianhídrico, en la forma descrita por Creel y Faget, del Servicio de Sanidad Pública de los Estados Unidos, hállanse entre los métodos importantes en uso para la desinfección de barcos, coches cama, etc. La regulación de las cuarentenas y la supervisión de los barcos que llegan son importantes. En los Estados Unidos se impone una cuarentena de siete días a los barcos que proceden de puertos donde hay peste. Deben tomarse precauciones para impedir el paso de las ratas a lo largo de las amarras cuando los barcos anclan en un muelle. Esto se logra generalmente por la aplicación de grandes discos circulares a lo largo de los cables de amarre de modo que las ratas no los puedan cruzar.

Cuando se descubren focos de peste en alguna comunidad, debe recurrirse a la destrucción amplia de ratas y al aislamiento de los focos por destrucción de edificios, haciendo los sótanos inaccesibles a las ratas, etc. Blake ha introducido un sistema del cual Castellani y Chalmers hablan muy elogiosamente, fundado en que la exterminación de las ratas y otras medidas precautorias deben iniciarse en amplio círculo alrededor del foco, trabajando hacia el centro, ya que si el trabajo se empieza en el foco mismo en un círculo que se ensancha, puede fácilmente servir para esparcir las ratas. En las Filipinas y los poblados en los cuales los nativos viven en chozas primitivas se ha recurrido a la incineración de las casas, pero esto también puede fácilmente ocasionar que se disperse la población de ratas en los distritos vecinos. La exterminación de las ratas en gran escala suele efectuarse con venenos de los cuales la pasta de fósforo es el más importante. Tiene especial interés la protección de las reservas de alimentos y la atención particular a todos los depósitos de alimentos, granos, etc., alrededor de los cuales las condiciones son a propósito para el acúmulo de ratas.

Diagnóstico bacteriológico. Como el diagnóstico bacteriológico de los primeros casos que ocurran es uno de los problemas de prevención más importantes, diversos gobiernos han establecido métodos de recolección y envío de material que deben seguirse si se presentan casos sospechosos en el hombre o en las ratas. En *Public Health Report*, volumen 35, número 37, se halla indicado el método de recolección del material para Estados Unidos, que copiamos textualmente de este boletín, como sigue:

A los oficiales del servicio de Sanidad Pública y oficiales de Sanidad de los Estados y localidades

Debido a la aparición de peste en diversos puertos de América es importante que todos los casos sospechosos de peste, tanto en el hombre como en los animales, sean sujetos a examen bacteriológico. *

1. Debe enviarse a los laboratorios el siguiente material de personas o roedores afectos de peste.

Casos humanos vivos

a) Pus o líquido ganglionar de los bubones, aspirados con jeringa u obtenidos por incisión, sembrado en tubos de agar inclinado.
b) Porciones de tejidos enfermos, extirpados por operación en frascos esterilizados, con tapón de seguridad.
c) Muestras de sangre, en ámpulas cerradas esterilizadas o en tubos de ensayo.
d) Cultivos de organismos sospechosos, en agar inclinado.

Casos humanos (Necropsia)

a) Porciones de los tejidos afectados —preferiblemente bubones, pulmones y bazo— en frascos de vidrio esterilizado, con tapón de seguridad.

* Las muestras deben ser remitidas a U. S. Public Health Service, Plague Laboratory, 14th Avenue and Lake Street, San Francisco, California.

Roedores

a) Los restos completos del roedor en tarro de conserva de fruta.

2. No colocar los tejidos o roedores en substancias conservadoras. El diagnóstico bacteriológico de la peste estriba en producir la enfermedad en animales de laboratorio y aislar y cultivar el organismo causal, *Pasteurella pestis.*

Cualquier substancia conservadora que mate a este organismo hará fracasar el propósito del examen. Si se teme la descomposición de la muestra, se puede colocar en un recipiente bien cerrado y éste, a su vez, rodeado de hielo en un recipiente mayor, preferiblemente de madera. Cada muestra debe ser marcada con claridad, de preferencia con lápiz ordinario, indicando la fecha y sitio exacto de donde fué tomada.

3. El remitente debe hacer constar que la muestra está empaquetada de manera que no hay peligro para los que la manejan, siempre que sea en forma adecuada.

A este respecto es necesario que las muestras sean envueltas en suficiente algodón u otro material absorbente, para evitar el escurrimiento del líquido del recipiente si el vidrio se rompe.

Deben observarse explícitamente las siguientes instrucciones.

1. *Envío por exprés.* La ley federal de EE. UU. prohibe el envío por correo de cultivos o material infectado de peste.

2. No hacer paquetes demasiado pequeños por cuanto se pueden perder más fácilmente en el trámite o pasar inadvertidos.

3. Cada paquete debe marcarse como sigue:

AVISO

Este paquete contiene muestras peligrosas
para examen bacteriológico. Se ruega
expedirlo con rapidez *

Por supuesto, debe hacerse la autopsia cuidadosamente en todos los casos, animales o humanos, y estudiarse las lesiones. Los cultivos se hacen en agar y los frotis se toman de los bubones o esputos y se tiñen por el azul de metileno de Löffler buscando las formas de aspecto bipolar y de degeneración de los microorganismos. El diagnóstico de cultivo se hace por el desarrollo de los microorganismos y sus colonias, propiedades tintoriales, aspecto en agar salino, aglutinación en suero inmune y, sobre todo, inoculación a ratas y cobayos, observando las lesiones características en estos animales.

Como el examen de las ratas es importante en el estudio de las epidemias, es oportuno revisar las lesiones típicas en estos animales. Hay ingurgitación de los vasos subcutáneos y coloración rosada de los músculos. Cuando se encuentra el bubón, basta para el diagnóstico. Lo rodea una zona muy inyectada, a veces con infiltración hemorrágica. El ganglio mismo es duro, pero caseoso, en ocasiones hemorrágico. En el hígado hay una aparente degeneración grasa, pero ello es debido a la necrosis. Manchas puntiformes le dan aspecto moteado; parece haber sido espolvoreado con pimienta. El derrame pleural es signo importante. El bazo es grande, friable; con frecuencia presenta gránulos puntiformes en la superficie. El uno o dos por ciento de las ratas pueden no presentar lesiones muy manifiestas. Por supuesto, deben hacerse cultivos.

El método de examen consiste en sumergir la rata en algún antiséptico conveniente para matar las pulgas y otros ectoparásitos. Las ratas se clavan por sus patas a una tabla y se abre y despega la piel de toda la parte superior del cuerpo y cuello de modo que queden expuestos los ganglios de las regiones cervical, axilar e inguinal. Después se abren y examinan las cavidades torácica y abdominal.

Un boletín publicado por el servicio de Sanidad Pública de EE. UU. en noviembre de 1920 (35, Nº 45), ha establecido las ordenanzas para evitar las ratas. Las copiamos a continuación.

Para impedir la penetración de las ratas en los edificios se recurre generalmente a elevar la estructura, con apuntalamiento abierto y libre o a disponer paredes de concreto, de piedra

* *U. S. Pub. Health Rep.,* Vol. 35, 37.

o ladrillos colocados sobre cemento impenetrable a las ratas, hundidas 60 cm en el suelo y bien adaptadas al piso de encima. La pared debe ajustar firmemente con el pavimento y no simplemente apoyar en viguetas o maderamen de soporte, ya que esto podría resultar en espacios abiertos que permitirían la entrada de los roedores. Establos, almacenes, mercados y depósitos de alimentos en general, son los que mejor se pueden hacer impenetrables a las ratas con piso y paredes de concreto. En estos locales, desalojados como quedan por la noche, las ratas pueden entrar fácilmente por puertas o ventanas dejadas abiertas por descuido, o introducirse ocultas en la mercancía y, royendo el entarimado del suelo, obtener un escondite bien protegido.

Además del suelo y paredes de concreto, estos depósitos de alimentos deben tener puertas bien ajustadas; todas las ventanas y otras aberturas deben protegerse adecuadamente. Es preferible una rejilla de alambre del N° 12 por su fuerza y durabilidad; la malla no debe ser mayor de un centímetro.

La defensa contra las ratas por elevación del edificio es principalmente aplicable a viviendas de madera de pequeño o mediano tamaño. El propósito es tener una elevación suficiente, alrededor de sesenta centímetros, de modo que el terreno que queda por debajo quede tan expuesto y descubierto como la tierra no edificada alrededor. La protección marginal bastará en las viviendas más ricas donde se puede ejercer cuidado suficiente para impedir que las ratas roan a través de los pisos.

Los corrales de gallinas pueden protegerse por paredes marginales de concreto, hundidas en el terreno 60 cm y cubiertas por los lados y por arriba con rejilla de alambre con malla de un centímetro. Los botes de la basura deben ser de metal, con tapa de ajuste adecuado.

Deben evitarse las aceras y las cubiertas de madera para los patios. En su lugar debe usarse cartón y concreto, el último con protección marginal, para impedir que las ratas escarben por debajo de él.

Deben evitarse paredes dobles con espacio muerto entre ellas; si se usan, deben hacerse impenetrables para las ratas en la parte superior, y en la inferior con vigas de madera dura, de 10 por 10 cm recubiertas con material de relleno o concreto. Los áticos deben estar bien abiertos y libres de basura u otros refugios de ratas. *

Estas precauciones contra el anidamiento de ratas y para protección de suministros de alimento, en combinación con el envenenamiento y la parada de trampas, resultarán muy útiles para suprimir las ratas.

La ordenanza modelo aneja es aplicable, quizá con ligeras modificaciones, a cualquier comunidad urbana. Para cambiarla en la forma o la substancia si es necesario, debe ser examinada por un consejo local competente, teniendo presente las consideraciones adecuadas de carácter legal.

Productos biológicos. Se han producido en caballos sueros antibacterianos y antiendotóxicos, pero su potencia es baja y probablemente serán desplazados de la terapéutica por las sulfonamidas y la estreptomicina.

Se han empleado cierto número de vacunas para provocar inmunidad activa. Las de uso más frecuente son: 1) la vacuna inactivada por el calor de Haffkine (1897); 2) la vacuna formolada del ejército de Estados Unidos, y 3) la vacuna de bacilos vivos avirulentos de Otten (1941), Jawetz y Meyer (1944) y Grasset (1946).

La vacuna precipitada por alcohol de Wayson, McMahon y Prince (1946) fué la más eficaz en experimentos en cobayos, pero su poder antigénico para el hombre todavía espera comprobación clínica.

Los *preparados de bacteriófago* han dado resultados desalentadores (Platzer, 1946).

Tratamiento. Los sueros antibacterianos y antitóxicos son de poco valor en la peste, probablemente porque no inhiben el desarrollo de los bacilos (Jawetz y

* El *Diario Oficial de México* de 29 de marzo de 1940 publicó el Reglamento de construcción en puertos y predios para profilaxis contra la peste. (N. del T.)

Meyer, 1944). Tanto las sulfonamidas como la estreptomicina retrasan el desarrollo de *Pasteurella pestis;* están apareciendo publicaciones en número creciente que indican su eficacia en el tratamiento de la peste.

Una serie de publicaciones señalan que las sulfonamidas, particularmente la sulfadiacina, son tan buenas o mejores que el suero antipestoso (Ruegsegger y Gilchrist, 1947). En una serie la mortalidad pasó del 80 al 21 por ciento (Mathur y Goyal, 1945); en otra, del 50 al 18 por ciento (Huang y Chu, 1946).

Los mejores resultados se obtienen cuando la terapéutica por las sulfonamidas se empieza el primero o segundo día de la enfermedad. Es de interés comprobar que se han curado solamente cuatro casos de peste neumónica con sulfonamidas, antisueros o ambos. El primero fué un médico americano previamente inmunizado (Munter, 1945). Los otros tres fueron tratados en Orán (Roux y Mercier, 1946). La meningitis pestosa ha sido uniformemente mortal a pesar del tratamiento con sulfonamidas y sueros (Landsborough y Tunnell, 1947).

Los resultados con estreptomicina son más alentadores. La eficacia de la estreptomicina ha sido demostrada en animales (Hornibrook, 1946; Herbert, 1947). Los estudios de Wayson y McMahon (1946) hacen pensar que el tratamiento combinado con sulfonamidas y estreptomicina es superior a uno u otro aislado; un médico chino se restableció de peste neumónica con sulfadiacina y estreptomicina (Ruegsegger y Gilchrist, 1947).

Claro está que debe hacerse uso de las inyecciones intrarraquídeas de estreptomicina complementando el tratamiento combinado en casos de meningitis pestosa.

Prevención. Es muy importante eliminar las ratas de las regiones endémicas de peste, pero resulta difícil de llevar a cabo, aunque Macchiavello (1946) ha publicado resultados muy alentadores con el uso de un preparado de flúor conocido como "1080". Prevenir que las ratas infectadas difundan requiere una cuarentena rígida. Los barcos procedentes de puertos infectados son mantenidos en cuarentena durante siete días, y sus cargas se tratan con cianhídrico. Todos los barcos están provistos de grandes planchas metálicas circulares que rodean los cabos que los unen con el muelle, para impedir que las ratas entren o salgan del barco.

Gordon y Knies (1947) han expuesto la técnica que resultó eficaz para hacer abortar epidemias de peste en el norte de Africa durante la segunda Guerra Mundial. El primer ataque va dirigido contra las pulgas más bien que contra las ratas, ya que el envenenamiento de ratas en gran escala puede diseminar la peste al dispersarse las pulgas hambrientas. Se trazó un círculo de unos 200 metros de diámetro alrededor del punto foco de la peste y trabajando desde la periferia hacia dentro se trató íntegramente toda la zona con pulverizaciones de DDT con talco.

Se puede prevenir la infección del individuo sano en el ambiente de un paciente con peste por administración profiláctica de 3 g diarios de sulfonamida (Lewis y col., 1945; Meyer, 1946). La inmunización activa se manifiesta en 7 a 10 días después de la inyección de vacuna de la peste; así que las sulfonamidas deben seguirse administrando por este período de tiempo. Los individuos que no han recibido vacuna durante los cuatro meses anteriores deben inyectarse una dosis estimulante.

BACTERIAS DEL GRUPO DE LA SEPTICEMIA HEMORRAGICA Y ENFERMEDADES DE LOS ANIMALES

En muchos animales inferiores ocurren enfermedades bacterianas agudas, caracterizadas por septicemia general, por lo común con hemorragias petequiales en

todos los órganos y en las serosas, e intensa inflamación intestinal. Estas enfermedades, referidas como "septicemias hemorrágicas", son causadas por un grupo de bacilos estrechamente relacionados, reunidos primeramente por Hueppe en 1886. Ha existido cierta confusión en cuanto a las formas que deben ser consideradas dentro del grupo de la septicemia hemorrágica de Hueppe; hay algunos bacteriólogos que incluyen en él bacilos tales como *Salmonella typhimurium* de Löffler y el bacilo del cólera de los cerdos, de Salmon y Smith, microorganismos que por su movilidad y caracteres de cultivo pertenecen más propiamente al grupo de Gaertner, enteritidis o paratífico, intermedio entre los coli y los tíficos.

Los organismos que propiamente pertenecen a este grupo son bacilos cortos, más gruesos que los del tipo coli, con tendencia a teñirse más intensamente en los polos que en el centro. Son *inmóviles, no poseen flagelos y no forman esporas.* Se desarrollan rápidamente en medios simples y muestran neta preferencia por el oxígeno, no desarrollándose sino ligeramente por debajo de la superficie de los medios. Algunos observadores los caracterizan como "aerobios obligados", pero ello sin duda es erróneo.

Aunque muestran variaciones considerables de forma y pequeñas diferencias en los caracteres de cultivo, la *tinción polar*, la *decoloración por el método de Gram,* la *inmovilidad*, la *falta de licuefacción de la gelatina* y el *gran poder patógeno para los animales* son comunes a todos los miembros del grupo. Sus principales representantes reconocidos son el bacilo del cólera de las gallinas, el bacilo de la peste porcina *(Deutsche Schweineseuche)* y *Bacillus pleurosepticus*, que causa una enfermedad aguda en el ganado vacuno y en muchos casos también en animales silvestres.

La línea divisoria entre el bacilo de la peste, *Pasteurella pseudotuberculosis* y los organismos que causan septicemia hemorrágica y diversos cuadros agudos y crónicos en los animales, no es muy precisa. Por razones clínicas, epidemiológicas y de salud pública, hemos seguido la práctica ortodoxa de tratar la peste y la tularemia en secciones diferentes de las que dedicamos a otras septicemias hemorrágicas de los animales. Sin embargo, para el grupo conjunto de estas bacterias se ha adoptado el nombre genérico *Pasteurella* y Bergey ha registrado *Pasteurella avicida* como especie tipo. Los organismos que producen septicemias hemorrágicas en los animales difieren de los bacilos de la peste en general por la *producción de indol*, por su infecciosidad específica y por sus reacciones serológicas. El pariente más próximo al bacilo de la peste es el llamado *Past. pseudotuberculosis*.

Pasteurella pseudotuberculosis (Bacillus pseudopestis). Todos los autores están de acuerdo con Meyer en que "designar como *pseudotuberculosis* toda enfermedad caracterizada por lesiones anatomopatológicas similares a las producidas por los bacilos de la tuberculosis, ha llevado a una gran confusión". * La formación de *seudotubérculos* en cobayos se puede provocar por inyección de substancias inertes, toxinas, parásitos y diversas bacterias. Esta lesión, por lo tanto, es demasiado inespecífica para que permita pensar en un solo factor etiológico. Además, la propensión del cobayo enfermo con cualquier tipo de infección a sucumbir a un microorganismo patógeno adquirido secundariamente, en particular algún miembro de los grupos paratífico o de la septicemia hemorrágica, ha introducido otro elemento de confusión. Por lo tanto, no es anómalo que el llamado *Past. pseudotuberculosis* aparezca en la literatura en diferentes formas. Nos parecería aconsejable abandonar el término *pseudotuberculosis* para designar ninguno de estos organismos. El germen al cual nos referimos en este capítulo es más apropiado llamarlo *Bacillus pseudo-*

* K. F. Meyer, *The Newer Knowledge of Bacteriology and Immunology*, Chicago, 1928, p. 614.

pestis o *Pasteurella pseudopestis* o por algún nombre que pudiera evitar la reunión de los términos peste y tuberculosis.

Past. pseudotuberculosis es un microorganismo *gramnegativo* semejante en muchos aspectos al bacilo de la peste. Es *inmóvil*, no forma esporas, se desarrolla como *Past. pestis* en caldo o agar y *no produce indol*. Ocasiona una enfermedad progresiva y mortal en los cobayos, que puede ser epidémica y aparecer en tres tipos clínicos (Ramón); septicémica, gastrointestinal y linfoadenopática. Al parecer, este microorganismo sólo tiene ligero poder patógeno para las ratas, a las que produce lesiones crónicas leves. Existe relación serológica estrecha entre este organismo y el bacilo de la peste. Todavía no se han diferenciado claramente las reacciones de aglutinación cruzada y las pruebas cruzadas de protección entre *Past. pestis* y el bacilo seudopestoso de los cobayos (MacConkey, 1908).

La mayor parte de los que han estudiado *Past. pseudotuberculosis* han observado que el organismo es *inmóvil* en cultivos incubados a 37° C. (Kakehi, 1916; Römisch, 1920; Meyer y Batchelder, 1926). Arkwright (1927), sin embargo, ha confirmado observaciones más antiguas según las cuales el organismo es *móvil* cuando crece entre 18° y 28° C. Este punto y otros problemas relacionados con este microorganismo requieren nuevas investigaciones.

Bacilo del cólera de las gallinas (Bacillus avisepticus). * El bacilo del cólera de las gallinas fué estudiado primero por Pasteur, en 1880. Es un bacilo corto, inmóvil, que mide de 0,5 a 1 μ de longitud. Teñido con los colorantes de anilina ordinarios, presenta tinción polar manifiesta, que con frecuencia le da el aspecto de diplococo. Es *gramnegativo*. *No forma esporas*, pero en ocasiones presenta formas vacuoladas, no diferentes de las descritas para *Past. pestis*.

El bacilo se cultiva fácilmente a partir de la sangre y órganos de animales infectados; se desarrolla bien en los medios más simples a temperaturas que varían desde 25° C. a 40° C. En caldo produce enturbiamiento uniforme con formación tardía de una película. Sobre agar, en 24 a 48 horas forma colonias diminutas, de color blanco o amarillento que primero son transparentes y más tarde se vuelven opacas. Sobre gelatina se desarrolla sin licuefacción. En leche, el desarrollo es lento y no produce coagulación. En caldo-peptona forma *indol*. Por la fermentación de un número de carbohidratos *se forma ácido, pero no gas*.

Entre las aves de corral, esta enfermedad está muy extendida; afecta a pollos, patos, gansos y gran variedad de aves menores. La infección es en extremo aguda y acaba con el animal en pocos días. Se acompaña de diarrea, frecuentemente sanguinolenta, gran agotamiento y, hacia el fin, somnolencia rayana en el coma. La necropsia de los animales revela inflamación hemorrágica de la mucosa intestinal, hépato y esplenomegalia y, con frecuencia, bronconeumonía.

Se pueden encontrar los bacilos específicos en la sangre, en diversos órganos, en los exudados cuando los hay, y en gran número en las deyecciones. La infección tiene lugar probablemente por alimento y agua contaminados por evacuaciones de aves enfermas.

En tales animales, la inoculación subcutánea o la ingestión de cultivos puros, aun en dosis muy pequeñas, origina una septicemia de evolución rápida uniformemente mortal. El bacilo tiene gran poder patógeno para los conejos, menor para los cerdos, ovejas y caballos si la infección se produce por inoculación subcutánea. La ingestión del germen no parece causar enfermedad en estos animales.

Históricamente el bacilo del cólera de las gallinas es interesante en extremo, ya que fué el microorganismo con el cual Pasteur llevó a cabo algunas de sus inves-

* Especie: *Pasteurella avicida.*

tigaciones fundamentales sobre inmunidad y logró inmunizar pollos con cultivos atenuados. El primer experimento de atenuación hecho por Pasteur consistió en dejar, sin transplantar, a los bacilos en un caldo de cultivo por largo tiempo. Inoculó pollos con dosis pequeñas de tal cultivo (Vacunas I) y después de diez días, con pequeñas dosis de un cultivo virulento. Aunque de importancia enorme en principio, los resultados prácticos de este método, aplicado al cólera de las gallinas, no fueron satisfactorios. Fué también con este bacilo que Pasteur logró demostrar el primero la existencia de una toxina libre que podía separarse de las bacterias por filtración.

Bacilo de la peste porcina (Bacillus suisepticus, Schweineseuche). * Este bacilo es casi idéntico en forma y caracteres de cultivo al bacilo del cólera de las gallinas. Es *inmóvil, no forma esporas, es gramnegativo* y *no liquida la gelatina.* Causa una enfermedad epidémica entre los cerdos que se caracteriza, casi con regularidad, por bronconeumonía seguida de septicemia general. Suele haber exudado pleural serosanguinolento y aumento de tamaño de los ganglios linfáticos bronquiales, del hígado y del bazo. El aparato digestivo rara vez se afecta. En la necropsia se pueden encontrar los bacilos en los pulmones, en los exudados, en el hígado y bazo y en la sangre. En los cerdos jóvenes la enfermedad es casi siempre mortal (T. Smith, 1886).

La infección espontánea probablemente ocurre por inhalación. La inoculación experimental en los cerdos tiene éxito tanto si se hace subcutáneamente como si se efectúa por inhalación. También son susceptibles los ratones, cobayos y conejos que mueren en 3 ó 4 días después de la inoculación subcutánea de pequeñas dosis.

La inmunización activa y pasiva de los animales contra *Past. suilla* ha sido intentada por diversos experimentadores. La inmunización activa, si se practica con cuidado, puede lograrse en el laboratorio. La inmunización pasiva de animales con suero de caballo inmunizado activamente ha sido lograda por Kitt y Mayr (1897), Schrieber (1899) y Wassermann y Ostertag. Estos últimos, trabajando con un suero polivalente producido con varias cepas diferentes del bacilo, han obtenido resultados de considerable valor práctico.

La infección de los cerdos con el bacilo de la peste porcina suele acompañarse de la infección con bacilos del cólera de los cerdos *(Schweinepest)*. Este último, como ya se indicó, es un microorganismo que pertenece al grupo enteritidis, intermedio entre *E. coli* y *S. typhosa*, que difiere de *Past. suilla* en ser activamente móvil, poseer flagelos, no presentar tinción polar, ser delgado y producir gas en caldo glucosado. Con frecuencia se confunden los dos bacilos por la nomenclatura. Bacteriológicamente son totalmente distintos; *Past. suilla* produce una septicemia aguda acompañada de bronconeumonía; no afecta el aparato digestivo. El bacilo del cólera de los cerdos produce una infección localizada en el intestino.

Otras especies importantes de este grupo son *Pasteurella boviseptica*, causa de septicemia hemorrágica en el ganado bovino doméstico, venados y caballos; *Pasteurella vituliseptica*, causa de neumonía en las terneras, probablemente idéntica a la *boviseptica*, y *Pasteurella oviseptica*, causa de neumonía y enteritis en el ganado lanar (Schütze, 1929).

Pasteurella cuniculicida es causa de romadizos y septicemia en conejos. El nombre más antiguo y familiar era *Past. lepisepticum*. Este germen ha desempeñado importante papel en Bacteriología. De Kruif (1921) descubrió la disociación de las especies bacterianas estudiando este organismo. Webster (1924) lo ha utilizado en epidemiología experimental y ha demostrado que existe relación entre este organismo y *H. bronchisepticus* (Bull y McKee, 1927).

* Especie: *Pasteurella suilla.*

BIBLIOGRAFIA

Arkwright, J. A. *Lancet*, 1927, 1:13.
Bacot, A. W., and Martin, C. J. *J. Hyg.*, 1914, Plague Supp., 423; 1924, 23:98.
Baker, E. E., Sommer, H., Foster, L. E., Meyer, E., and Meyer, K. F. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1947, 64:139.
Berkman, S. *J. Inf. Dis.*, 1943, 71:201.
Bhatnagar, S. S., and Shrivastava, D. L., *J. Hyg.*, 1946, 44:307.
Bull, C. G., and McKee, C. M. *Am. J. Hyg.*, 1927, 7:110.
Castellani and Chalmers. *Manual of Tropical Medicine*, New York, 1919.
Creel, R. H. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1913, 28:Nº 27.
de Kruif, P. *J. Exper. M.*, 1921, 33:773 y siguientes.
Doudoroff, M. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1943, 53:73.
Douglas, J. R., and Wheeler, C. M. *J. Inf. Dis.*, 1943, 72:18.
Eskey, C. R., and Haas, V. H. *Pub. Health. Bull.*, 1940, Nº 254, página 1.
Francis, E. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1943, 58:1379.
German Plague Com. Rep., 1899.
Gordon, J. E., and Knies, P. T. *Am. J. Med. Sci.*, 1947, 213:362.
Grasset, E. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.*, 1942, 35:203; *ibid.*, 1946, 40:275.
Haffkine. *Indian M. Gaz.*, 1897.
Herbert, D. *Lancet*, 1947, 1:626.
Hirsch, A. *Handb. d. histor.-geograph. Pathologie*, Stuttgart, 1881.
Hornibrook, J. W. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1946, 61:535.
Huang, G. H., and Chu, L. W. *Am. J. Trop. Med.*, 1946, 26:831.
Hueppe, F. *Berl. klin. Wchnschr.*, 1886, 23:753, 776, 794.
Jawetz, E., and Meyer, K. F. *J. Inf. Dis.*, 1943, 73:124; *ibid.*, 1944, 74:1.
——— *J. Immunol.*, 1944, 49:1, 15.
Kakehi, S. *J. Pathol. & Bacteriol.*, 1916, 20:269.
Kitasato, S. *Lancet*, 1894, 2:428.
Kitt, T., and Mayr, J. *Monatschr. f. prakt. Tierh.*, 1897, 8:529.
Lahnum, W. H. *U. S. Nav. Med. Bull.*, 1946, 46:782.
Landsborough, D., and Tunnell, N. *Brit. Med. J.*, 1947, 1:4.
Lewis, P. M., Buehler, M. H., and Young, T. R., Jr. *Bull. U. S. Army Med. Dept.*, 1945, 87:13.
MacConkey, A. T. *J. Hyg.*, 1908, 8:335.
McCoy, G. W. *Am. J. Hyg.*, 1921, 1:182.
——— *U. S. Pub. Health Rep.*, July, 1912; July, 1913, Nº 37.
——— *J. Infect. Dis.*, 1909, 6:170, y siguientes.
Macchiavello, A. *Am. J. Pub. Health*, 1946, 36:842.
Mathur, W., and Goyal, R. *Indian M. Gaz.*, 1945, 80:383.
Meyer, K. F. *The Newer Knowledge of Bacteriology and Immunology*, Chicago, 1928.
——— *Am. J. Pub. Health*, 1938, 28:1153.
——— *Am. J. Trop. Med.*, 1942, 22:9.
——— *Ann. New York Acad. Sci.*, 1946, 48:429.
——— and Batchelder, A. *J. Infect. Dis.*, 1926, 39:383.
——— Holdenried, R., Burroughs, A. L., and Jawetz, E. *J. Inf. Dis.*, 1943, 73:144.
Munter, E. J. *J.A.M.A.*, 1945, 128:281.
Otten, L. *Mededeel. v.d. Dienst d. Volksgezandheid Nederland-Indie*, 1941, 30:61.
Pasteur, L. *Compt. rend. Acad. d. sc.*, Paris, 1880, 90:239.
Pirie, J. H. H. *Rep. S. African Inst. Med. Res.*, 1927, 3:109.
——— *Rep. S. African Inst. Med. Res.*, 1936, 13.
——— and Grasset, E. *S. African Med. J.*, 1938, 12:294; *ibid.*, 1941, 15:275.
Platzer, R. F. *U. S. Naval Med. Bull.*, 1946, 46:1674.
Ramon, G. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1914, 28: 568.
Rao, M. S. *Indian J. Med. Res.*, 1939, 27:75, 617, 833.
Römisch. *Ztschr. f. Infektionskr. d. Hautiere*, 1920, 21:138, 212.
Roux, A. H., and Mercier, C. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1946, 39:173.
Ruegsegger, J. M., and Gilchrist, H. *Am. J. Trop. Med.*, 1947, 27:683.
Schrieber. *Berl. tierärztl. Wchnschr.*, 1899, 10.
Schütze, A. *A System of Bacteriology in Relation to Medicine*, London, 1929, 4:446.
——— *Brit. J. Exper. Path.*, 1932, 13:284; *ibid.*, 1939, 20:235.
Smith, T. U. S. Dept. Agric. Bureau Animal Indust., 1886.
Sokhfy, S. S. *J. Path. & Bacteriol.*, 1940, 51:97.
——— and Habbu, M. K. *J. Bacteriol.*, 1943, 46:25, 33.
Teague, O., and Barber, M. A. *Philippine J. Sc.*, Sec. B., 1912, 7:257.
Wats, R. C., Wagle, P. M., and Puduval, T. K. *Indian J. Med. Res.*, 1939, 27:373.
Wayson, N. E., and McMahon, M. C. *J. Lab. & Clin. Med.*, 1946, 31:323.
———, McMahon, M. C., and Prince, F. M. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1946, 61:1511.
Webster, L. T. *J. Exper. M.*, 1924, 39:843, 40:109; 1926, 43:55, 573.

——— and Burn, C. *J. Exper. M.*, 1926, 44:343, 359.
Wherry, *J. Infect. Dis.*, 1908, 5.
Williams, C. L. *Am. J. Trop. Med.*, 1926, 6:367.
Woodward, G. E. *J. Biol. Chem.*, 1944, 156: 143.
Wright, H. D. *J. Path. & Bacteriol.*, 1934, 39:381.
Yersin, S. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1894, 8:662.
Zentner, H. M. *Human Plague in the United States from 1900 to 1940*, Tulane University, New Orleans, 1942.
Zinsser, H. *Rats, Lice and History*, Little, Brown & Co., Boston, 1935, p. 197.
U. S. Pub. Health Rep., 1924, 39:47.

CAPITULO XL

BACILLUS ANTHRACIS Y CARBUNCO * (PUSTULA MALIGNA)

Familia: *Bacillaceae* Fischer. Género: *Bacillus* Cohn. Especie: *Bacillus anthracis* Cohn *emend.* Koch

El carbunco es primariamente una enfermedad de los herbívoros, en particular del ganado vacuno y ovino, y en menor extensión, de caballos, cerdos y cabras. Los perros y otros carnívoros son relativamente inmunes a la infección espontánea. El hombre posee un grado intermedio de susceptibilidad; es más resistente que los herbívoros y más sensible que el perro.

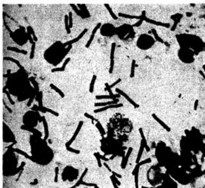


FIG. 112. BACILLUS ANTHRACIS.

En frotis del bazo de un animal muerto de carbunco.

El carbunco es una vieja enfermedad que ha constituído, durante siglos, una plaga en los países productores de ganado vacuno y ovino. Es relativamente raro en Inglaterra y América, pero es un azote en Austria, Hungría, Alemania, Francia y los países orientales. Ninguna región del globo está libre por completo de carbunco.

Hasta cierta punto, la historia de *Bacillus anthracis* es la historia de la Bacteriología. Este bacilo es tan grande que fué visto en preparaciones de sangre sin teñir por Davaine y Rayer en 1850 y por Pollander en 1855. En 1857, Brauell lo-

* En la terminología anglosajona se emplea la palabra *anthrax* para referirse a la pústula maligna. En los países de lengua española, el término ánthrax se refiere a la infección piógena de la piel, de carácter multifolicular y multiorificial. La pústula maligna se conoce entre nosotros con el nombre de carbunco. (N. del T.)

gró infectar animales con sangre que contenía estos bastoncillos del carbunco. El tamaño del microorganismo y su fácil desarrollo hicieron posibles los estudios clásicos de Koch, quien, en 1877, cultivó los bacilos en el humor acuoso del ojo de buey, describió su ciclo de vida y reprodujo la enfermedad en animales. Finalmente. Pasteur y sus colaboradores (1881) atenuaron los bacilos, cultivándolos a una temperatura de 42° a 43° C., cambiando así el *virus* en una *vacuna* y dando la primera prueba de aplicación práctica de la *inmunización activa* contra una enfermedad.

Morfología y tinción. *Bacillus anthracis* es un bacilo recto de 5 a 10 μ de longitud y de 1 a 3 μ de ancho. Cuando se examina en frotis de sangre o tejidos de un animal infectado, los microorganismos suelen hallarse aislados o en pares (fig. 112). Sus extremos aparecen cortados en escuadra y los ángulos con frecuencia son tan agudos que los bacilos de la cadena están en contacto a ese nivel dejando una hendidura oval entre los organismos. El aspecto de una cadena de *Bacillus anthracis* ha sido comparado con cierta razón al de una caña de bambú. Cuando los microorganismos se desarrollan en la sangre o en los tejidos de un animal, se rodean de *cápsulas* bien definidas. Las cápsulas parecen envolver a toda la cadena, no a cada bacilo por separado. Estas estructuras pueden verse cuando el microorganismo se cultiva en medios que contienen suero, pero están ausentes o no se descubren cuando se cultivan en medios simples. Las formas vegetativas son *grampositivas*.



FIG. 113. BACILLUS ANTHRACIS. De un cultivo puro en agar.

Las *esporas* se forman en los cultivos, en el suelo y en los restos de los animales muertos, pero no en la sangre o tejidos de los animales vivos. Al parecer, es necesario el oxígeno libre para su producción. Las esporas son ovales, se desarrollan cerca de la parte media del bacilo (fig. 113) y no son más anchas que el cuerpo del microorganismo. No se tiñen por el método de Gram, pero se pueden demostrar fácilmente por cualquiera de los métodos corrientes de coloración de esporas.

Caracteres de cultivo. El desarrollo máximo del organismo se obtiene a pH 7,0 a 7,4 en *condiciones aerobias;* en ausencia de oxígeno se produce un desarrollo muy limitado. La temperatura óptima para el desarrollo máximo es de 37° C., pero el crecimiento no cesa ni con temperaturas tan bajas como 12° C. y tan altas como 45° C. Por cultivo continuado, los organismos pueden llegar a adaptarse para temperaturas bajas o altas y acaban incluso creciendo en forma lujuriante. Los bacilos se desarrollan fácilmente en los medios simples del laboratorio y producen en 24 horas colonias plumosas grandes, elevadas, opacas, blancogrisáceas, que miden de 2 a 3 mm de diámetro y poseen un borde irregular con flecos (fig. 114). Bajo el microscopio, a pequeño aumento, pueden verse las colonias como masas entrelazadas de rizos de cabellos largos. La colonia es de consistencia membranosa y se emulsiona con dificultad. Los bacilos pueden desarrollarse en un medio sin-

tético simple que contenga glicina y cistina, sin adición de vitaminas (Gladstone, 1939).

Bacillus anthracis coagula y peptoniza la leche, licua lentamente la gelatina, pero no forma indol ni SH_2. No fermenta la lactosa, pero con *glucosa* forma *ácido sin gas.* Ni por sus caracteres morfológicos ni de cultivo se pueden diferenciar con certeza los bacilos del carbunco de algunos bacilos esporulados, saprófitos muy similares; por lo tanto, es esencial la prueba de su poder patógeno (Stein, 1944).

Resistencia. Debido a su propiedad de formar esporas, el bacilo del carbunco es extremadamente resistente a cambios del ambiente químico y físico. Las formas vegetativas no son más resistentes que la mayor parte de las otras bacterias no esporuladas; las destruye una temperatura de 54° C., en treinta minutos. Las esporas de *Bacillus anthracis* se pueden conservar en estado de desecación durante muchos años sin pérdida de su viabilidad (Surmont y Arnould, 1894). Mientras hay variaciones en la resistencia de las esporas de diferentes cepas de bacilos de la pústula maligna, todos los bacilos carbuncosos presentan una resistencia extremadamente alta para el calor. El calor seco a 140° C. requiere tres horas para destruirlas. El vapor fluente a 100° C. las mata en cinco a diez minutos. La ebullición las destruye en unos diez minutos.

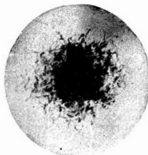


FIG. 114. COLONIA DE BACILO DEL CARBUNCO EN GELATINA.

(Guenter.)

La destrucción de las esporas del carbunco en pieles, cueros y cepillos resulta muy difícil. Blue (1919) señala que el mejor método para los cepillos es la inmersión durante cuatro horas en solución de formol al 10 por ciento a 43,5° C. Los cabellos y cerdas se pueden esterilizar al autoclave a 122° C. durante tres horas, pero esto estropea muchos materiales. Las esporas pueden seguir viables, después de expuestas a solución de fenol al cinco por ciento durante cuarenta días o pueden ser destruídas por la misma solución en dos días. El sublimado corrosivo al 1:2 000 mata a las de la mayor parte de las cepas en cuarenta minutos. La luz solar directa destruye las esporas del carbunco en seis a doce horas.

Las infecciones experimentales de carbunco en ratones han sido tratadas con sulfonamidas, penicilina y estreptomicina. Empleadas en dosis máximas, las *sulfonamidas* salvaron al cinco por ciento, la *penicilina* al 58 por ciento y la *estreptomicina* al 92 por ciento de los animales infectados (Miller y col., 1946).

Variabilidad. Los bacilos virulentos del carbunco producen colonias rugosas (R). Se han descrito formas lisas (S), mucoides (M) y gonidiales (G) menos virulentas o no virulentas (Gratia, 1924; Nungester, 1929). En relación con la guerra, Zelle y sus colaboradores (1946) seleccionaron variantes especialmente adaptadas para invadir las vías respiratorias.

Las cepas atenuadas que Pasteur obtuvo por cultivo del organismo a 42° ó 43° C. no formaban esporas. El cambio esencial, sin embargo, no estribaba en la pér-

dida de la capacidad para formar esporas, ya que algunas cepas no formadoras de esporas son altamente patógenas. La virulencia depende de la presencia de una cápsula o de la capacidad del microorganismo para formarla cuando se introduce en el cuerpo animal. Mientras que distintas cepas de *Bacillus anthracis* pueden variar considerablemente en su virulencia, una cepa aislada se mantiene bastante constante en este respecto si se deseca y se conserva en fibras o se guarda en tubos lacrados en lugar obscuro y frío. La virulencia suele aumentar, pero no siempre, por el paso en animales.

Metabolitos bacterianos. No se han demostrado *exotoxinas* ni *endotoxinas* en los cultivos de *Bacillus anthracis;* de aquí que el mecanismo por el cual estos microorganismos matan a los animales, permanece obscuro. Los filtrados de cultivos y los bacilos muertos no tienen acción tóxica observable sobre los animales ni estimulan el desarrollo de inmunidad. Se ha supuesto que la muerte se produciría de manera mecánica, por taponamiento de los capilares de ciertos órganos vitales por los bacilos. Generalmente se encuentra gran número de bacilos en los tejidos al tiempo de la muerte, pero en algunos casos esto es insuficiente para explicar la del animal por fenómeno mecánico. El cuadro clínico de toxemia indudable en el hombre y en algunos animales de experimentación hace suponer que se forme una toxina en el cuerpo animal. Esta teoría está sustentada por las observaciones de Cromartie y sus colaboradores (1947a), quienes extrajeron de las lesiones experimentales una substancia tóxica que dañaba los tejidos localmente cuando se inyectaba en animales normales. Los conejos mueren con hipoglucemia y síntomas que recuerdan el envenenamiento por el magnesio. Estos síntomas pueden ser parcial y temporalmente aliviados por la inyección de gluconato de calcio (Bloom y colaboradores, 1947).

Estructura antigénica. La substancia capsular del bacilo de la pústula maligna *no es un polisacárido* sino un *polipéptido* de alto peso molecular, compuesto exclusivamente de *ácido d (—) glutámico.* Esta sustancia no es específica de *Bacillus anthracis* sino que se encuentra en cantidades menores en *B. subtilis* y en otros bacilos aerobios esporulados no patógenos (Tomcsik e Ivanovics, 1938). Los cuerpos de los bacilos contienen un *polisacárido* que consta de glucosamina y galactosa ligadas a una molécula de ácido acético (Ivanovics, 1940). Los bacilos capsulados muertos por el calor, cuando se inyectan a conejos, estimulan la producción de anticuerpos específicos, tanto para la proteína capsular como para el polisacárido somático. La presencia de ambos antígenos se puede demostrar en los tejidos de los animales muertos de carbunco por medio de pruebas de precipitinas específicas. La cápsula de ácido d (—) glutámico no es constituyente normal del organismo animal y no puede ser destruída por animales sensibles para la enfermedad. Sin embargo, los animales que han sido inmunizados contra el carbunco, adquieren la facultad de destruir la substancia capsular (Cromartie y colaboradores, 1947a). Los tejidos de un animal naturalmente inmune como el perro, poseen la capacidad de destruir o inhibir la producción del material capsular, por lo cual el microorganismo es fagocitado y destruído. Se pueden encontrar referencias adicionales de estudios de antígenos de *Bacillus anthracis* en las publicaciones de Grabar y Staub (1944, 1945, 1946).

Prueba de Ascoli. Bacillus anthracis dentro del organismo animal está encapsulado y contiene un polipéptido específico. Es probable que el material de esta naturaleza constituya el antígeno termoestable obtenido por Ascoli de extractos de órganos de animales muertos de carbunco para su reacción diagnóstica de precipitación. Estos extractos dan un precipitado con el suero anticarbonoso. La pre-

cipitinorreacción de Ascoli es útil para establecer un diagnóstico rápido cuando el trabajo ha de ser hecho con material pútrido de los animales muertos, con tejidos conservados en formol o alcohol, o con pieles. Para hacer el extracto se hierve una pequeña porción del bazo en 5 a 10 c. c. de solución salina; se enfría y se filtra; entonces se coloca ésta sobre el antisuero evitando que se mezclen. En las pruebas positivas aparece una zona de precipitado en la unión del extracto y el antisuero. Al mismo tiempo deben disponerse testigos convenientes. El suero terapéutico anticarbuncoso ordinario puede ser poco rico en precipitinas. El suero más útil para la prueba de Ascoli debe prepararse inmunizando animales (conejos) contra los bacilos capsulados del carbunco (Rosenberg y Romanow, 1929).

Enfermedad espontánea en los animales. Los herbívoros adquieren la infección por ingestión de esporas que probablemente penetran en el cuerpo a través de cortes o erosiones microscópicos de la mucosa bucal o intestinal. Cuando un pasto ha sido contaminado con esporas de *Bacillus anthracis* puede constituir una fuente de infección durante 20 ó 30 años. Aunque es imposible determinar el momento de la infección en un caso de carbunco espontáneo, lo cierto es que la duración de la enfermedad es de unos pocos días. Los animales infectados no presentan síntomas hasta unas pocas horas antes de la muerte. La oveja de Argel, de lanas largas, tiene una resistencia relativamente alta al carbunco, en contraste con las variedades europeas, que son muy susceptibles. La mortalidad en los herbívoros suele ser del 80 por ciento.

Enfermedad experimental en animales de laboratorio. Los ratones, cobayos y conejos son muy susceptibles y mueren con septicemia dos a cuatro días después de la infección. Los perros y cerdos son más resistentes y desarrollan lesiones locales semejantes a las características de la pústula maligna en el hombre (Cromartie y col., 1947b).

Tipos clínicos de infección en el hombre. El hombre suele adquirir el carbunco por inoculación cutánea accidental, pero los bacilos o las esporas pueden ser también inhalados o ingeridos. En algunos casos la fuente de infección es difícil de descubrir, como en el caso mortal de un obrero de la industria de teclas de piano que adquirió el carbunco por contacto con colmillos de elefante (Seidman y Wheeler, 1947).

La inoculación cutánea suele producirse a través de pequeñas erosiones o arañazos en la piel de hombres que habitualmente manejan animales vivos y en los carniceros o en los curtidores de pieles. La infección ocurre con mayor frecuencia en manos y antebrazos. La lesión primaria llamada con frecuencia "pústula maligna" aparece de 12 a 24 horas después de la inoculación y al principio semeja un pequeño forúnculo ordinario. Pronto, sin embargo, su centro presenta una vesícula llena de líquido serosanguinolento, luego seropurulento. Puede evolucionar formando una necrosis negra central rodeada por una aréola edematosa de color rojo vivo. La gangrena local y la infección general pueden llevar a la muerte en 5 ó 6 días. Con mayor frecuencia, sin embargo, y especialmente si se instituye un pronto tratamiento, el paciente se recupera. El diagnóstico precoz se logra bacteriológicamente buscando los bacilos en los exudados locales.

La infección pulmonar, conocida como "enfermedad de los esquiladores", se observa en personas que manejan lana bruta, cueros o cerdas de caballo, por inhalación o deglución de las esporas. La enfermedad es rara en los Estados Unidos. Las esporas, una vez inhaladas, se desarrollan en formas vegetativas que circulan por los linfáticos hasta alcanzar los pulmones y la pleura. La enfermedad se manifiesta como neumonía atípica, que en la mayor parte de los casos conduce a la

muerte. En estos casos de infección pulmonar los bacilos suelen encontrarse en el esputo antes de la muerte.

Transmisión. Durante la primera Guerra Mundial y después de ella la infección de la piel por bacilos del carbunco, adquirida de los cepillos de uñas, fué reconocida tanto en Inglaterra como en América (Coutts, 1917; Symmers y Cady, 1921; Jacobsohn, 1923-24).

La infección por las vías digestivas es rara en el hombre; se produce por ingestión de carne poco cocida de animales infectados. El cuadro clínico es el de una violenta enteritis con evacuaciones sanguinolentas y gran postración. La muerte es la regla. El diagnóstico se establece por el hallazgo de los bacilos en las heces.

Tratamiento. El suero inmune, inyectado intravenosamente o por aplicación local alrededor de la lesión, ha reducido la mortalidad del carbunco en el hombre de un 25 a un 8 por ciento (Regan, 1921; Jacobsohn, 1923-24). La *sulfadiacina* disminuye la mortalidad del carbunco experimental en monos del 85 al 7 por ciento (Schabel y col., 1946). La *penicilina* es más eficaz que la sulfadiacina o el suero, tanto en los animales de experimentación como en el hombre (McCullough y Auersperg, 1947; Ellingson y col., 1946). Los estudios experimentales de Miller y colaboradores (1946) parecen indicar que la *estreptomicina* es más eficaz todavía que la penicilina.

Prevención. Los animales con carbunco conocido o supuesto deben ser aislados y sus cadáveres enterrados profundamente para evitar la diseminación de las esporas en los pastos nuevos. La lana, cerdas de caballo y cueros procedentes de regiones donde el carbunco es endémico, deben ser esterilizados. Las esporas que se hallan en el pelo y la lana pueden destruirse por ebullición durante tres horas o con vapor a presión. Los cueros y pieles que no pueden ser hervidos deben esterilizarse por tratamiento con una mezcla de sal-ácido clorhídrico diluído, a 40° C. durante seis horas.

La *inmunización activa* es el único método conocido de prevenir el carbunco en los herbívoros en lugares donde los pastos están ya contaminados con esporas. El método de la inmunización activa practicada primero por Pasteur y utilizado aún extensamente, se lleva a cabo como sigue:

Se usan como *vacunas* dos cultivos de *Bacillus anthracis* de grados diferentes de atenuación. La *primera vacuna* es un cultivo que ha perdido su virulencia para cobayos y conejos y sólo es potente contra ratones. La *segunda vacuna* es un cultivo todavía netamente virulento para ratones y cobayos, pero sin potencia para conejos. La vacuna realmente empleada está formada por cultivos en caldo de 48 horas de estas cepas, desarrolladas a 37° C. La vacuna I se inyecta subcutáneamente al ganado vacuno en dosis de 0,25 c.c.; las ovejas reciben aproximadamente la mitad de este volumen. Después de doce días se inyectan cantidades similares de la vacuna II (Pasteur y col., 1881).

El método de Pasteur ha dado excelentes resultados y confiere inmunidad que dura cerca de un año (1884).

Chauveau modificó el método de Pasteur cultivando los bacilos en caldo a 38° ó 39° C., a una presión de ocho atmósferas. Después se hacen cultivos de cepas atenuadas en esta forma en caldo de pollo y se las deja desarrollar durante 30 días. Se considera que una sola inyección de 0,1 c. c. de uno de tales cultivos protege al ganado.

Sobernheim (1897, 1899) introdujo el tratamiento de los animales con suero inmune y la segunda vacuna de Pasteur simultáneamente. Eichhorn (1915), para lograr respuestas más intensas sin peligro, ideó una vacuna con esporas de cepas cuidadosamente estudiadas que mantenían su actividad en solución salina gliceri-

nada y que podían ser valoradas. La vacuna, como él la preparó, provoca respuestas con gran regularidad y se puede combinar con suero inmune para la inmunización rápida. En 1925 distribuyó 50 000 dosis de su vacuna más virulenta, que provocaron respuestas en el 95 por ciento de los animales vacunados. Los caballos dan respuestas más intensas que los mulos y bovinos. Las pérdidas por la vacunación directa son insignificantes y el método de combinación de vacuna con esporas y suero debe usarse para hiperinmunización al preparar suero.

La *inmunización pasiva* con suero de animales inmunizados activamente fué primero lograda con éxito por Sclavo en 1895.

BACILOS ESPORULADOS AEROBIOS

Bacillus anthracis es el único miembro patógeno de un amplio grupo de bacilos grampositivos y gramvariables que esporulan. Los otros miembros de este grupo, aunque no patógenos, son importantes en Bacteriología general por sus activos procesos metabólicos, cuando se desarrollan en el suelo y en materia orgánica muerta. Estos organismos muy resistentes al calor y a los antisépticos químicos cuando están en fase de espora permiten estudiar los métodos usados para la esterilización de medios de cultivo, enlatados de alimentos y otros procesos de conservación. Los productos de su desarrollo tienen diversos usos útiles en la industria. La costumbre de dividir las materias esporuladas en dos géneros, según sus requerimientos de oxígeno, está ganando terreno, si bien las formas microaerófilas intermedias y el margen de tolerancia al acceso y a la privación de oxígeno por estos organismos hacen que una división rigurosa no sea natural. El nombre genérico de *Bacillus* ahora suele aplicarse únicamente a los aerobios esporulados. El género *Clostridium* incluye los anaerobios esporulados.

Los aerobios esporulados que deben mencionarse en un texto de Bacteriología médica son aquellos que semejan a *Bacillus anthracis*. Como hay muchos otros que se encuentran en los exudados o heridas superficiales, o contaminan los cultivos, es esencial un acuerdo general al respecto. Para una descripción de ellos se remite al lector a los útiles y amplios estudios de Ford y colaboradores.

Los más importantes aerobios esporulados que semejan a *B. anthracis* son: *B. anthracoides*, *B. ramosus* y *B. subtilis*.

B. anthracoides (Hueppe y Wood). *Bacillus anthracoides* es un bacilo grampositivo, no patógeno, que difiere morfológicamente de *B. anthracis* en que sus extremos son más redondeados. En los cultivos, *B. anthracoides* es de desarrollo más rápido y también licua la gelatina más rápidamente que *B. anthracis*.

B. ramosus (bacilo de Wurzel). *B. ramosus* es un microorganismo no patógeno que se ha cultivado del agua, incluso de suministros de agua de ciudades. Es algo mayor y de tamaño más irregular que *B. anthracis*. Licua la gelatina rápidamente y se desarrolla en forma lujuriante a la temperatura de la habitación.

B. subtilis (bacilo del heno). Aunque no muy estrechamente relacionado con el grupo del carbunco, este bacilo es similar y por lo tanto conviene describirlo. Tiene importancia para los que trabajan con bacterias patógenas por la frecuencia con que se encuentra como saprófito e invasor secundario en lesiones supuradas crónicas (fig. 115).

B. subtilis es un bastoncillo recto grampositivo, de 2 a 8 μ de longitud y 0,7 μ de ancho, que crece en cadenas largas. Forma esporas que aparecen algo más cerca de un polo que de otro. Este microorganismo sólo es activamente móvil en los cultivos jóvenes. Licua la gelatina. En gelatina o en agar los bacilos se desarro-

llan formando una película corrugada seca. Al microscopio las colonias son irregularmente redondas con bordes de flecos dispuestos en hebras entrelazadas. Tienen tendencia a confluir. El bacilo se encuentra en aguas corrompidas, en infusiones de materias vegetales, etc. Prácticamente, no es patógeno; sólo se presenta en ocasiones como saprófito en heridas y senos con infecciones antiguas.

Aunque *Bacillus subtilis* es la especie tipo del género, todavía no hay acuerdo en cuanto a sus características. Las dificultades de la taxonomía están claramente expuestas en las publicaciones de Soule y Conn (1932, 1930) sobre características de *B. subtilis* y de *B. cereus.*

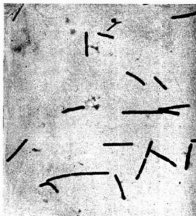


FIG. 115. BACILLUS SUBTILIS.

(Bacilo del heno.)

B. cereus, B. megatherium y *B. ramosus* son a veces llamados las "especies de grandes células" puesto que son netamente mayores que *B. anthracis* y *B. subtilis.* La especificidad inmunológica de las esporas es diferente de la de la substancia celular (Lamanna, 1940). Las especies de aerobios esporulados de células pequeñas se pueden separar en cuatro tipos principales por los estudios antigénicos de las esporas y de la substancia celular (Sievers, 1942).

BIBLIOGRAFIA

ASCOLI, A. *Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therap.*, 1911, 11:103.
BARTHOLOMEW, J. W., and UMBREIT, W. W. *J. Bacteriol.*, 1944, 48:567.
BLOOM, W. L., MCGHEE, W. J., CROMARTIE, W. J., and WATSON, D. W. *J. Infect. Dis.*, 1947, 80:137.
BLUE. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1919, 35.
BRAUELL. *Arch. f. Path. u. Anat.*, 1857, 11:132.

CHAUVEAU. *Compt. rend. Acad. d. sc.*, 1884.
CHURCHMAN, J. W. *J. Exper. M.*, 1927, 46:1007.
CONN, H. J. *J. Infect. Dis.*, 1930, 46:341.
COUTTS. Reports to Local Gov. Board, London, 1917, N. S. 112.
CROMARTIE, W. J., WATSON, D. W., BLOOM, W. L., and HECKLY, R. J. *J. Infect. Dis.*, 1947a, 80:14.
———, BLOOM, W. L., and WATSON, D. W., *J. Infect. Dis.*, 1947b, 80:1.
DAVAINE and RAYER. *Bull. Soc. de Biol.*, 1850, p. 141.
EICHHORN, A. U. S. Dept. Agric. Bull., 1915, 34:16.
——— *J. Agric. Research*, 1917, 8:37.
——— *J. Am. Vet. M. Ass.*, 1925, 68:276.
ELLINGSON, H. V., KADULL, P. J., BOOKWALTER, H. L., and HOWE, C. *J.A.M.A.*, 1946, 131:1105.
EVANS, D. G. *Lancet*, 1943, 2:316.
GLADSTONE, G. P. *Brit. J. Exp. Path.*, 1939, 20:189.
GRABAR, P., and STAUB, A. M. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1944, 70:129; 1945, 71:385; 1946, 72:58.
GRATIA, A. *Compt. rend. Soc. de biol.*, 1924, 90:369.
HUEPPE and WOOD. *Berl. klin. Wchnschr.*, 1889, 16:347.
IVANOVICS, G. *Ztschr. f. Immunitätsforsch.*, 1940, 97:443.
JACOBSOHN. Month, Bull. N. Y. City Dep. Health, 1923-24, 14:Nos. 3, 7.
KOCH, R. In Cohn's *Beitr. z. Biol. d. Pflanz*, 1877, 2:277.
———, GAFFKY, and LÖFFLER. *Mitt. a. d. k. Gsndhtsamte.*, 1884.
——— and WOLFFHUEGEL. *Mitt. a. d. k. Gsndhtsamte.*, 1881.
LAMANNA, C. *J. Infect. Dis.*, 1940, 67:193, 205.
MCCULLOUGH, K., and AUERSPERG, A. P. *Am. J. Clin. Path.*, 1947, 17:151.
MILLER, E. S., SCOTT, E. B., NOE, H. A., MADIN, S. H., and HENLEY, T. F. *J. Immunol.*, 1946, 53:371.
NUNGESTER, W. J. *J. Infect. Dis.*, 1929, 44:73.
PASTEUR, CHAMBERLAND, and ROUX. *Compt. rend. Acad. d. sc.*, Paris, 1881, 92.
POLLANDER. *Vierteljahr f. Deutsche Med.*, 1855, 8:103.
REGAN, J. C. *Am. J. M. Sci.*, 1921, 162:406.
ROSENBERG, R., and ROMANOW, D. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt., 1929, 110:102.
SCHABEL, F. M., JR., REAMES, H. R., HOUSEWRIGHT, R. D. *J. Infect. Dis.*, 1946, 79:141.
SEIDMAN, R. M., and WHEELER, K. M. *J.A.M.A.*, 1947, 135:837.
SIEVERS, O. *J. Bacteriol.*, 1942, 43:305.
SOBERNHEIM, G. *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, 1897, 25:301; 1899, 31.
——— In Kolle and Wassermann, *Handbuch, etc.*, Vol. II.
SOULE, M. H. *J. Infect. Dis.*, 1925, 42:93; 1932, 51:191.
STEIN, C. D. *Am. J. Vet. Res.*, 1944, 5:38.
SURMONT, H., and ARNOULD, E. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1894, 8:817.
SYMMERS, D. *Ann. Surg.*, 1922, 75:663.
——— and CADY, B. W. *J.A.M.A.*, 1921, 77:2120.
TOMCSIK, J., and IVANOVICS, G. *Ztschr. f. Immunitätsforsch.*, 1938, 93:196.
ZELLE, M. R., LINCOLN, R. E., and YOUNG, G. A., JR. *J. Infect. Dis.*, 1946, 79:247.

CAPITULO XLI

BACILOS ANAEROBIOS E INFECCIONES DE HERIDAS. EL BACILO TETANICO Y EL TETANOS

Familia: *Bacillaceae* Fischer. Género: *Clostridium* Prazmowski. Especie: *Clostridium tetani* (Flügge) Holland

El tétanos, aunque enfermedad relativamente rara, ha sido reconocido como entidad clínica distinta desde hace siglos. Sin embargo, la naturaleza infecciosa de la enfermedad no fué demostrada hasta 1884, cuando Carlo y Rattone produjeron el tétanos en conejos por inoculación de pus de las lesiones cutáneas de un caso humano. Poco tiempo después, Nicolaier (1884) logró producir síntomas tetánicos en ratones y conejos inoculándolos con tierra. De las lesiones producidas en el punto de inoculación, Nicolaier (1885) describió un bacilo que puede haber sido *Clostridium tetani* pero que no logró aislar en cultivo puro. En 1889, Kitasato resolvió definitivamente el problema de la etiología al obtener, de casos de tétanos, cultivos puros de bacilos con los cuales fué capaz de reproducir la enfermedad en los animales.

Kitasato tuvo éxito por el uso de sus métodos de anaerobiosis y la eliminación de contaminantes no esporulados mediante el calor. Su método de aislamiento fué como sigue: El material infeccioso era extendido en superficies inclinadas de agar e incubado a 37° C. durante 24 a 48 horas. Los cultivos se sometían entonces a la temperatura de 80° C. durante 1 hora para destruir todas las bacterias no esporuladas, así como los aerobios esporulados que se habían desarrollado en forma vegetativa. Hecho esto, de los medios inclinados se sembraban placas de agar y se exponían a una atmósfera de la cual se había eliminado por completo el oxígeno substituyéndolo por hidrógeno. En estas placas se desarrollaban las colonias de *Cl. tetani*. El bacilo del tétanos se encuentra en las capas superficiales del suelo y con especial frecuencia en la tierra de los campos cultivados y abonados, proveniente con toda probabilidad de las heces de animales domésticos.

Morfología y tinción. El bacilo del tétanos es un bastoncillo delgado, de 2 a 5 μ de longitud y 0,3 a 0,8 μ de ancho. Las formas vegetativas que aparecen primitivamente en los cultivos jóvenes son ligeramente móviles y poseen numerosos *flagelos perítricos*. Después de una incubación de 24 a 48 horas, según la naturaleza del medio y el grado de anaerobiosis, los bacilos producen *esporas* que están característicamente *situadas en un extremo*, dando a la bacteria el aspecto diagnóstico en palillo de tambor. Conforme los cultivos envejecen las formas portadoras de esporas reemplazan completamente a las formas vegetativas (fig. 116).

El bacilo del tétanos se tiñe fácilmente por los colorantes de anilina y es *grampositivo*. La tinción de los flagelos sólo se logra cuando se utilizan cultivos muy jóvenes.

Caracteres de cultivo. *Clostridium tetani* es un *anaerobio obligado* que pierde su capacidad para producir toxina cuando se adapta al desarrollo aerobio. El efecto deletéreo del oxígeno se puede neutralizar y se obtiene desarrollo en presencia de

aire si se establece en el medio un bajo potencial de óxidorreducción. Así, por ejemplo, se obtiene un desarrollo excelente en medios que contienen ácido tioglicólico. El valor de la carne cocida depende de su contenido: 1) en ácidos grasos no saturados que toman oxígeno, y 2) en glutatium que crea un potencial de óxidorreducción negativo, correspondiente a un Eh de alrededor de —0,2 voltios (Lepper y Martin, 1930). El requerimiento del organismo para anaerobiosis mecánica es menor cuando se desarrolla en simbiosis con bacterias aerobias o en presencia de tejido fresco estéril.

Los bacilos se desarrollan mejor a 37° C. en pH de 7,0 a 7,5 y cesan el desarrollo a pH inferior a 6,4 o mayor de 9,2. La adición de glucosa al medio estimula el desarrollo de cultivos puros, aunque no hay pruebas de fermentación de éste o de otros carbohidratos. *Cl. tetani* se puede cultivar en un medio sintético, pero requiere *vitaminas* (tiamina, ácido nicotínico, riboflavina, piridoxina, ácido pantoténico, biotina y ácido fólico), *aminoácidos* (arginina, histidina, tirosina, valina, leucina, isoleucina y triptófano), *purinas* y *pirimidinas* (adenina y uracilo) y *ácido oleico* (Mueller y col., 1942, 1943).

El desarrollo en gelatina o en medios con agar se acompaña de producción de anhídrido carbónico y metilmercaptan; este último produce el característico olor desagradable a materia orgánica putrefacta.

Los aminoácidos y los compuestos carbonados son deshidrogenados y los requerimientos de energía se llenan por la reducción directa de aminoácidos como los ácidos glutámico y aspártico a CO_2, NH_3 y ácidos acético y butírico (Clifton, 1942; Pickett, 1943; Guggenheim, 1944).

En *caldo* de carne, en condiciones anaerobias, y en *caldo tioglicolado* en presencia de aire, hay enturbiamiento uniforme del medio en 24 a 36 horas.

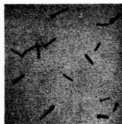


FIG. 116. CLOSTRIDIUM TETANI. Tinción de Gram. × 1 200. Cultivo de 72 horas con esporas.

En agar, a 37,5° C., aparece el desarrollo en 48 horas. Las colonias en placas de agar presentan un aspecto característico, en forma de un centro compacto rodeado por una malla laxa de filamentos finos, parecida al aspecto en cabeza de medusa de las colonias de *B. subtilis*, pero más delicadas, translúcidas y en forma de helecho. En columna de agar se producen finas prolongaciones radiales en todas direcciones desde el eje central, que tienden a dar al cultivo el aspecto de pelusa de algodón. *Hemolizan* el agar-sangre. En agar-sangre reciente el desarrollo se extiende sobre la superficie como una delgada ramita de helecho. La *leche* es un medio de cultivo favorable; no la coagulan. En *patata*, el desarrollo suele ser delicado aunque apenas visible.

La *germinación de las esporas* tiene lugar solamente a una tensión de oxígeno menor que la de los tejidos normales, explicándose así la imposibilidad de que las esporas germinen en tejidos normales y el papel que juega el tejido necrótico formando un foco favorable para el desarrollo de las esporas del tétanos.

Resistencia. Las formas vegetativas del bacilo del tétanos no tienen mayor resistencia al calor o a los agentes químicos que las formas vegetativas de otros microorganismos. Aquéllas, sin embargo, pueden resistir el calor seco a 80° C. alrededor de una hora, el vapor fluente por unos cinco minutos; el ácido fénico al 5 por ciento

los mata en 12 a 15 horas; el bicloruro de mercurio al 1 por ciento en dos o tres horas. La luz solar directa disminuye su virulencia y acaba por destruirlos. Protegidas de la luz solar y de otras influencias deletéreas, las esporas del tétanos pueden permanecer viables y virulentas durante muchos años. Henrijean ha referido haber logrado producir el tétanos con bacilos de una astilla de madera infectada once años antes (Fildes, 1925, 1927).

Las *sulfonamidas* tienen acción inhibidora sobre *Cl. tetani;* la *penicilina* a grandes dosis es algo más eficaz. La *estreptomicina* no tiene probablemente valor pero el tratamiento, ya que se requieren 104 microgramos por c.c. de cultivo líquido para inhibir el desarrollo del microorganismo.

Variabilidad. Se han observado colonias lisas y rugosas y variantes móviles e inmóviles. En muchos casos sólo se pueden obtener colonias aisladas de la forma móvil del organismo añadiendo al medio substancias químicas inhibidoras o aumentando el agar al 6 por ciento (Hayward y Miles, 1943).

Metabolitos bacterianos. *Cl. tetani* produce una *fibrinolisina* (Reed y colaboradores, 1943) y una *hemolisina.* Esta hemolisina, descubierta y denominada *tétanolisina* por Ehrlich (1898), se destruye rápidamente por oxidación al quedar expuesta al aire (Neill, 1926) y puede ser absorbida por una suspensión de glóbulos rojos. La hemolisina es antigénica; da lugar a la producción de una antihemolisina específica cuando se inyecta en los animales. Sin embargo, ninguno de estos metabolitos tiene potencia suficiente para que el bacilo sea patógeno. Por definición, este microorganismo es en sentido estricto un saprófito que sólo puede desarrollarse en tejidos muertos o alterados; pero al crecer en estos focos aislados elabora una poderosa *exotoxina* que puede matar al paciente.

Exotoxina. Las cepas virulentas de *Cl. tetani* producen una poderosa toxina soluble que puede ser separada de los cuerpos de los bacilos mediante filtros Berkefeld o Chamberland. La máxima producción de toxina se obtiene en unos diez a quince días, después de lo cual la destrucción espontánea de la toxina tiene lugar más rápidamente que su producción. La cantidad de toxina producida varía con el tipo de medio. En el medio de hidrolizado de caseína sin peptona, de Mueller y Miller (1943), se obtiene una excelente producción. Una reducción de la concentración de hierro del medio aumenta la producción de toxina (Mueller y Miller, 1940); la máxima síntesis se obtiene en un medio compuesto de digerido pancreático y autolisado de estómago de cerdo (Mueller y Miller, 1947).

La *toxina tetánica* es aún menos estable que la toxina diftérica. En solución se destruye completamente en 5 minutos por una temperatura de 68° C. La luz solar directa la inactiva en 15 a 18 horas, pero la adición del 5 por ciento de eosina a la solución acorta el tiempo a una hora (Flexner y Noguchi, 1905). En estado seco la toxina es más resistente; así la precipitación y la desecación sirven al doble propósito de concentrar y estabilizar la substancia. Las mejores preparaciones de Eaton (1936) fueron 99,5 por ciento puras; la dosis letal mínima (DLM) para un cobayo de 500 gramos sólo contenía 0,000009 a 0,0000018 mg de nitrógeno. La toxina purificada da las reacciones de una proteína, es inerte cuando se administra por la boca y se destruye por enzimas proteolíticas. Ha sido aislada en forma cristalina por Pillemer y colaboradores (1946), quienes observaron que cada miligramo de nitrógeno correspondía a 75 000 000 de unidades DLM.

Los animales de sangre fría no son sensibles a la toxina; los animales de sangre caliente varían muy ampliamente en susceptibilidad.

Los seres humanos son extremadamente susceptibles. Han ocurrido casos de tétanos general y a veces mortal en hombres que sólo habían sido arañados con una

aguja usada antes para la inyección de toxina a un caballo. Se dice que el hombre es tan susceptible como el caballo. La gallina es extremadamente resistente a la toxina; aproximadamente 360 000 veces más que el caballo. Una tabla útil de las susceptibilidades relativas de los animales, tomada de Fildes, * es la que sigue:

CANTIDAD RELATIVA DE TOXINA REQUERIDA PARA MATAR 1 GRAMO DE ANIMAL

Caballo	1	Cabra	6
Cobayo	2	Conejo	24
Mono	3	Perro	300
Ratón	4	Gato	2 400

La inoculación de un animal con toxina tetánica va seguida de un período definido de incubación (8 a 24 horas) antes que aparezcan los espasmos tóxicos. El sitio de la inyección, la especie animal y la cantidad de toxina inyectada influyen en la duración de la incubación. Aumentando la dosis este período se puede acortar, pero nunca eliminar por completo. Cuando la toxina se inyecta subcutáneamente los espasmos empiezan primero en los músculos más próximos al punto de inoculación y gradualmente se extienden hasta alcanzar a todos los músculos. La inoculación intravenosa suele dar lugar a un tétanos generalizado. Como la toxina se destruye por la acidez del jugo gástrico y por las enzimas proteolíticas del aparato digestivo, la ingestión de toxina no produce enfermedad.

La acción nociva de la toxina tetánica suele atribuirse a su afinidad por el sistema nervioso central, donde ejerce una acción semejante a la de la estricnina. Wassermann y Takaki demostraron que la toxina tetánica se neutralizaba plenamente cuando se mezclaba con substancia cerebral. Otros órganos, como el hígado y el bazo, no demostraron tal poder neutralizante. El origen central de las contracciones tetánicas fué puesto en evidencia por el trabajo de Gumprecht, quien logró detener los espasmos en una región determinada por sección de los nervios motores correspondientes.

La forma en la cual la toxina es transportada al sistema nervioso central ha sido ampliamente investigada. Marie y Morax (1902, 1903), seguidos por Meyer y Ransom (1903), aportaron gran número de datos experimentales indicadores de que la toxina alcanzaba las células del sistema nervioso central por la vía de los nervios motores.

En 1934, Abel inició un ataque a todas las antiguas concepciones acerca del transporte de la toxina tetánica por vía nerviosa. Con sus colaboradores, Hampil, Firor y otros, ha suministrado muchas pruebas experimentales para demostrar: 1) que la toxina tetánica, absorbida por los linfáticos, es llevada por la corriente sanguínea al sistema nervioso central, y 2) que probablemente hay dos componentes en la toxina, uno que actúa sobre las células del sistema nervioso central, produciendo espasmos clínicos, y otro que actúa directamente sobre los músculos produciendo contracciones tónicas. Firor, en 1938, comprobó que la toxina tetánica en la medula espinal de los perros se transforma en una substancia aun más venenosa.

Esta cuestión ha sido estudiada nuevamente por Friedemann y colaboradores (1941), quienes han presentado nuevas pruebas en apoyo de la teoría de la transmisión por el cilindroeje.

Antitoxina. La toxina tetánica es un antígeno excelente, pero, por desgracia, es una toxina tan potente que resulta difícil dar una dosis que no produzca trastornos. Cuando se trata con formol, la toxina se convierte en *toxoide* que no es tóxico pero sigue siendo antigénico (Ramon, 1924). La antitoxina comercial se produce lo mismo

* P. Fildes, *A System of Bacteriology in Relation to Medicine*, Londres, 1929, vol. 3, p. 308.

en caballos que en vacas, en estas últimas para los individuos sensibilizados al suero de caballo. Para inmunizar se usa el toxoide en las inyecciones iniciales, seguidas por la administración de toxina después que el animal ha producido alguna antitoxina. La unidad americana de antitoxina es *diez veces la cantidad mínima de suero antitetánico que salva la vida de un cobayo de 350 g por 96 horas frente a la dosis de prueba oficial de una toxina tipo suministrada por la entidad oficial Hygienic Laboratory of the Public Health and Marine Hospital Service* (Rosenau y Anderson, 1908).

La dosis de prueba para el cobayo es alrededor de 100 DLM. Cada unidad de antitoxina tetánica se neutraliza aproximadamente con 1 000 DLM de toxina y, por tanto, viene a ser diez veces el volumen de la unidad de antitoxina diftérica.

Las pruebas dirigidas bajo los auspicios de la Liga de Naciones demostraron que debe obtenerse una protección equivalente con una unidad alemana, 66 unidades americanas o 3 750 unidades francesas. El nuevo tipo internacional es media unidad americana.

Poder patógeno. La relativa rareza de la infección tetánica contrasta con la amplia distribución de los bacilos en la Naturaleza. Introducidos en el organismo animal como esporas y libres de toxina, no suelen provocar la enfermedad, sino que resultan presa fácil de la fagocitosis y otros mecanismos protectores antes de desarrollar formas vegetativas y producir toxina. La importancia protectora de la fagocitosis fué demostrada por Vaillard y Rouget (1892), quienes introdujeron esporas del tétanos, encerradas en sacos de papel, en el cuerpo de un animal. Las cápsulas de papel protegían las esporas de los leucocitos, pero no de los líquidos orgánicos. No obstante, el tétanos se desarrolló en los animales. La naturaleza de la herida y la presencia simultánea de otros microorganismos parecen ser factores importantes para que los bacilos del tétanos puedan proliferar. Las heridas profundas con desgarro, en las que ha habido considerable destrucción de tejidos y en las que se han introducido partículas de vidrio, trocitos de lana o granos de polvo, son particularmente favorables para el desarrollo de estos organismos. Los traumatismos de las fracturas compuestas y las heridas de escopeta llenan fácilmente estas condiciones; la presencia en tales heridas de los cocos piógenos comunes o de otros gérmenes más innocuos pueden ayudar mucho a la producción de un medio adecuado para el desarrollo de los bacilos del tétanos. Además de su presentación después de traumatismos se ha observado el tétanos en el puerperio; se han publicado casos aislados en que se ha presentado después de la difteria y de las úlceras de la garganta.

Entre el momento de la infección con bacilos del tétanos y la aparición de los primeros síntomas transcurre el *período de incubación*. En los casos humanos agudos puede durar de cinco a siete días; en los más crónicos de cuatro a cinco semanas. La inoculación experimental de cobayos suele ir seguida de incubación de tres días hasta que aparece rigidez de los músculos más próximos al punto de la infección. Este estado espástico se extiende rápidamente a otras partes y mata al animal en cuatro a cinco días.

Las autopsias de seres humanos o animales muertos de tétanos revelan lesiones insignificantes. El punto inicial de la infección, cuando puede descubrirse, suele ser pequeño, sin nada de particular. Aparte de una congestión general y moderada, los órganos no presentan alteraciones patológicas. Los bacilos se encuentran en escaso número, aun en el punto de la infección; rara vez han sido demostrados en la sangre o en las vísceras. Nicolaier (1884, 1885), trabajando con los órganos de animales infectados, sólo pudo producir tétanos en 11 de 52 casos. Creite (1904) logró cultivar los bacilos del tétanos del bazo y de la sangre del corazón de seres humanos infectados.

Las esporas pueden ser transportadas desde el sitio de la inoculación al hígado, bazo y otros órganos, donde se mantienen latentes por cierto tiempo (hasta 51 días). Si se lesiona el órgano experimentalmente y se mata el tejido o se producen coágulos de sangre, las esporas pueden desarrollarse y presentarse el tétanos. Estos experimentos explicarían los casos del llamado tétanos criptogenético.

En el hombre, el tétanos puede adoptar forma aguda o crónica; la palabra *crónica*, tal como se usa aquí, significa que el comienzo es menos brusco, el período de incubación más largo, el desarrollo del cuadro clínico más lento y el pronóstico más favorable. En la forma aguda, el tiempo de incubación varía de 3 ó 4 días a 12 ó 14; lo más común es que sea de unos siete días. En la forma llamada crónica, el período de incubación puede exceder de un mes. Generalmente, los primeros síntomas consisten en dolor de cabeza y depresión general seguidos con cierta rapidez por dificultad para deglutir y abrir la boca, debido al espasmo o trismo de los maseteros. Hay ligera rigidez de la nuca, que hace difícil para el paciente llevar el mentón en contacto con el pecho. Entonces aparecen espasmos en los músculos de las mejillas, dando lugar, de manera gradual, al estiramiento hacia arriba de los tejidos peribucales creándose una expresión curiosa y característica, la llamada *risa sardónica*. Los espasmos se extienden gradualmente al tronco y espalda, con aparición de opistotonos después de varios días. Puede seguir una dificultad creciente en la deglución, que se acompaña de evacuación involuntaria de orina y heces. La localización de los síntomas sigue hasta cierto grado a la de la lesión. En ocasiones puede ocurrir el tétanos inmediatamente después del nacimiento. Para el diagnóstico diferencial debe recurrirse a los libros de medicina y cirugía generales.

Se han publicado muchos tipos de tétanos atípico en personas no tratadas y en tratadas profilácticamente, la descripción de los cuales se puede encontrar en el libro *The Abnormal Forms of Tetanus* de Courtois-Suffit y Giroux, de la colección British Medical War Manuals, publicado en 1918. Los autores hablan de tétanos esplácnico, caracterizado especialmente por la participación de los músculos de la deglución y respiración, con gran disfagia. El tétanos cefálico simple, en el que la infección puede estar limitada a la cabeza, es un tipo en el que nunca se presenta disfagia, ni síntomas paralíticos y que resulta sobre todo de heridas de la cabeza. Se puede caracterizar solamente por trismo unilateral o bilateral o por la contracción de los músculos de la cara. Hay una forma disfágica en la cual los espasmos faríngeos preceden al trismo. Estos autores rara vez han observado una forma llamada hidrofóbica en la cual los espasmos van acompañados de convulsiones.

Tratamiento. Hablar del tratamiento específico del tétanos sin decir algunas palabras acerca del tratamiento quirúrgico produciría posiblemente una falsa impresión. Por lo tanto, aunque a nosotros sólo nos concierne el tratamiento específico, deseamos subrayar que el tratamiento quirúrgico debe practicarse siempre, sea cual sea el método de seroterapia empleado. El primero consiste en limpiar completamente la herida, extraer los cuerpos extraños, fragmentos de proyectiles, telas, partículas de polvo, etc. Es quizá mejor, cuando sea posible, efectuar el desbridamiento de la herida. De los estudios de Tulloch se deduciría que ningún apósito tiene ventajas particulares sobre los demás; debido al poder reductor de los tejidos es dudoso que los agentes oxidantes, como la insuflación de oxígeno, los peróxidos, etc., sean de mucho valor. Los primeros resultados de la seroterapia específica fueron muy desalentadores, aun con grandes dosis de antitoxina tetánica. Esto quizá sea debido en gran parte a que la antitoxina inyectada no podía tener influencia sobre la toxina que ya se había unido con los tejidos nerviosos. Se han empleado muchas modificaciones del método de inyección, como la inyección directa en el sistema nervioso central y en los troncos nerviosos

mismos. Se puede dejar establecido que la agudeza relativa de la infección tetánica influye netamente en los resultados de la seroterapia. La tabla * siguiente ilustra la utilidad de la seroterapia en esta enfermedad:

Período de incubación (días)	Curaciones	Muertes	Mortalidad (por ciento)	Mortalidad antes de la introducción de la seroterapia, según Brunner (por ciento)
1 a 5	3	7	70	90
5 a 10	20	7	29	70
10 a 12	7	1	13,3	...
Sobre 12	15	1	6,6	...

El éxito depende en principio de lo precoz que sea el tratamiento. La inyección principal debe ser intravenosa o intramuscular, con administración adicional de pequeñas cantidades en las zonas en que drena la lesión. La dosificación debe ser lo más alta posible; la frecuencia de las inyecciones dependerá de los resultados.

No se puede afirmar que el tratamiento con antitoxina del tétanos establecido sea netamente benéfico aun cuando se den grandes dosis tanto por vía intrarraquídea como intravenosa. Estamos de acuerdo con Wainwright (1926) en que la *inyección intrarraquídea de antitoxina es peligrosa e inútil.* Florey y Fildes llegaron a la conclusión, por los resultados de los experimentos en conejos, que la inyección intrarraquídea de antitoxina no era más eficaz que la intravenosa. Calvin, quien en 1930 publicó un análisis de los casos de tétanos registrados en el hospital Cook County de Chicago, señaló que en un período de 15 años no había habido disminución en la mortalidad a despecho del uso creciente de antitoxina. La mortalidad era del 84 por ciento en pacientes con tétanos con período de incubación menor de 10 días y del 25 por ciento en los casos en que el período de incubación era de 14 a 25 días.

Se han obtenido mucho mejores resultados desde la introducción de las sulfonamidas y la penicilina. Si bien estos agentes tienen cierta acción sobre el bacilo del tétanos, probablemente son más útiles por reprimir la infecciones piógenas asociadas que alteran los tejidos y así facilitan el desarrollo de los gérmenes tetánicos. La administración de sedantes, con miras a dominar los espasmos tónicos y clónicos, conserva las fuerzas del paciente. La relajación completa se puede obtener con ayuda de drogas de tipo curare, pero éstas deben usarse con extrema precaución y solamente en un hospital equipado para practicar una traqueotomía de urgencia.

Inmunización pasiva. El uso más importante de la antitoxina tetánica conocido hasta ahora es su administración profiláctica. Los métodos de aplicación han variado en las diferentes partes del mundo. Su gran valor fué demostrado por la casi inmediata disminución de los casos de tétanos en los soldados heridos después de la introducción universal de la antitoxina tetánica como profiláctica en todos los ejércitos en campaña. Las heridas que son particularmente peligrosas en cuanto a tétanos se refiere son aquellas en las cuales hay grandes desgarros, especialmente lesiones de huesos, y en las cuales penetra suciedad y, en particular, tierra abonada o de los campos cultivados, y heces. El desarrollo de los bacilos de tétanos se favorece por la presencia de tejido necrosado y de otros organismos infectantes. Los estudios hechos

* Esta tabla es de Courtois-Suffit y Giroux, *Military Medical Manuals,* University of London Press, Londres, 1918, pág. 193.

por miembros del servicio de Sanidad de EE. UU. han demostrado que el tétanos se puede producir con regularidad si una infección estafilocócica acompaña a la infección con esporas del tétanos, y que la alteración de los tejidos por la inyección de pequeñas cantidades de substancias como la quinina puede iniciar el desarrollo de esporas de tétanos latentes, con la subsiguiente evolución de la enfermedad. Las esporas del tétanos pasan a lo largo del tubo digestivo de los animales y del hombre sin producir daño alguno y se distribuyen en el suelo donde viven por tiempo casi ilimitado. Las heridas sufridas por los hombres en el campo, especialmente por proyectiles irregulares de los grandes explosivos, y cualquier herida en contacto con el suelo y ropas sucias o a través de la piel sin lavar, constituyen un foco ideal para la infección. En consecuencia, en casi todos los ejércitos aliados, a todos los heridos se les administraba una inyección de 1 000 a 1 500 unidades de antitoxina tetánica tan pronto como llegaban al médico. En la vida civil, las heridas que requieren tratamiento profiláctico similar son las que van acompañadas de contusión grave, producidas en condiciones de suciedad, especialmente las fracturas compuestas.

No daremos ninguna pauta para el tratamiento profiláctico, pero la inyección de 500 a 1 500 o incluso 5 000 unidades de antitoxina debe hacerse subcutáneamente tan pronto como sea posible después de producida la lesión. La primera inyección puede no ser suficiente, ya que la antitoxina desaparece gradualmente en unos 12 días. Las heridas de evolución tórpida o los casos en los cuales es necesaria una intervención secundaria, como extracción de secuestros, reducción de huesos, etc., pueden necesitar una segunda inyección después de 6 a 8 días, con las precauciones debidas para prevenir la anafilaxia. En tales casos, a juicio del cirujano, las segundas inyecciones son casi obligadas, ya que la experiencia de la primera Guerra Mundial demostró que el tétanos rara vez aparece después de dos inyecciones profilácticas.

Inmunización activa. En 1936, Bergey y Etris introdujeron en Estados Unidos el toxoide tetánico para inmunización activa del hombre. Estos autores usaron primero una preparación destoxicada con 0,3 por ciento de formol (Ramon, 1924). Pronto emplearon el toxoide refinado precipitado por alumbre. Su trabajo, así como los de Jones y Moss (1936), Cowles (1936) y Evans (1943), demostraron que después de tres inyecciones de toxoide los seres humanos producen de 0,01 a 0,1 unidad o más de antitoxina tetánica por c.c. de suero. El título antitóxico de la sangre suele conservarse alto durante un mínimo de un año. Se readquiere rápidamente por una inyección subcutánea única.

En la segunda Guerra Mundial todo el personal militar de las fuerzas norteamericanas fué inmunizado activamente con toxoide tetánico. Cuando era herido, el paciente recibía inmediatamente una dosis activadora de toxina que aumentaba la antitoxina de la sangre hasta un nivel adecuado para protegerle y suprimía la necesidad de antitoxina.

La inocuidad del procedimiento inmunizante queda demostrada por el hecho de que solamente se observó una reacción local o general intensa por cada 10 000 inmunizaciones (Bigler y Werner, 1941).

La mayor parte de los pediatras emplean una mezcla de toxoides tetánico y diftérico e inmunizan a los niños para ambas enfermedades simultáneamente.

BIBLIOGRAFIA

Abel, J. J. *Science*. 1934, 79:63, 121.
——— y col. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1935, 56:84, 317: 1935, 57:343; 1936, 59:307; 1938, 62:522, 610.
Bergey, D. H., and Etris, S. *J. Immunol.*, 1936, 31:363.
Bigler, J. A., and Werner, M. *J.A.M.A.*, 1941, 116:2355.

CALVIN, J. K. *J.A.M.A.*, 1930, 94:1977.
CARLO and RATTONE. *Gior. d. r. Accad. di med. di Torino*, 1884.
CLIFTON, C. E. *J. Bacteriol.*, 1942, 44:179.
COURTOIS-SUFFIT, and GIROUX. *Military Med. Manuals*, Univ. of London Press, London, 1918.
COWLES, P. B. *Yale J. Biol. and M.*, 1936, 9:409.
CREITE. *Centralbl. f. Bakteriol.*, Abt. Orig. 1904, 37:312.
EATON, M. D. *Proc. Soc. Exper. M. & Biol.*, 1936, 35, 16.
——— Recent Chemical Investigations of Bacteriol. Toxins. *Bacteriol. Rev.*, 1938, 2:3.
EHRLICH. *Berl. klin. Wchnschr.*, 1898.
EVANS, D. G. *Lancet*, 1943, 2:316.
FILDES, P. Véase la serie de artículos en *Brit. J. Exper. Pathol.*, 1925 a 1927, vols. 6 a 8.
——— Bacillus Tetani, *A System of Bacteriology in Relation to Medicine*, London, 1929, 3:228-372.
FIROR, W. M., and JONAS, A. F. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1938, 62:91.
——— and LAMONT, A. *Ann. Surg.*, 1938, 108:941.
FLEXNER and NOGUCHI. *Stud. Rockefeller Inst. M. Research*, 1905, 5.
FLOREY, H., and FILDES, P. *Brit. J. Exper. Pathol.*, 1927, 8:393.
FRIEDEMANN, U., HOLLANDER, A., and TARLOV, I. M. *J. Immunol.*, 1941, 40:325.
GUGGENHEIM, K. *J. Bacteriol.*, 1944, 47:313.
GUNNISON, J. B. *J. Immunol.*, 1937, 32:63.
HAYWARD, N. J., and MILES, A. A. *Lancet*, 1943, 2:116.
JONES, F. G., and MOSS, J. M. *J. Immunol.*, 1936, 30:115, 1937, 33:183.
JUNGLEBLUT, C. W. *J. Immunol.*, 1937, 33, 203.
KITASATO, S. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1889, 31.
——— *Ztschr. f. Hyg.*, 1891, 10.
LEPPER, E., and MARTIN, C. J. *Brit. J. Exper. Path.*, 1930, 11:137, 140.
MACLENNAN, J. D. *Brit. J. Exper. Path.*, 1939, 20:371.
MARIE, A., and MORAX, V. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1902, 16:418; 1903, 17:335.
MEYER, H., and RANSOM, F. *Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol.*, 1903, 49:369.
MUELLER, J. H., and MILLER, P. A. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1940, 43:389.
——— and MILLER, P. A. *J. Bacteriol.*, 1942, 43:763.
——— and MILLER, P. A. *J. Immunol.*, 1943, 47:15.
——— and MILLER, P. A. *J. Immunol.*, 1947, 56:143.
NEILL, J. M. *J. Exper. M.*, 1926, 44:227.
NICOLAIER. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1884, 10:842.
——— *Inaug. Diss.*, Göttingen, 1885.
PICKETT, M. J. *J. Biol. Chem.*, 1943, 151:203.
PILLEMER, L., WITTLER, R., and GROSSBERG, D. B. *Science*, 1946, 103:615.
RAMON, G. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1924, 38:1.
——— and DESCOMBEY, P. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1927, 41:834.
——— and ZOELLER, C. *Compt. rend. Soc. de biol.*, 1933, 112:347.
REED, G. B., ORR, J. H., and BROWN, H. J. *J. Bacteriol.*, 1943, 46:475.
ROSENAU and ANDERSON. *U. S. Pub. Health Serv. Bull.*, No. 43, 1908.
VAILLARD and ROUGET. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1892.
WAINWRIGHT, J. *Arch. Surg.*, 1926, 12:1062.
WASSERMANN and TAKAKI. *Berl. klin. Wchnschr.*, 1898.

CAPITULO XLII

BACILOS ANAEROBIOS E INFECCIONES DE HERIDAS

CLOSTRIDIUM PERFRINGENS Y BACTERIAS ANAEROBIAS ASOCIADAS CON LESIONES TRAUMATICAS

Familia: *Bacillaceae* Fischer. Género: *Clostridium* Prazmowski

Los bacilos anaerobios que infectan las heridas fueron estudiados extensamente durante la primera Guerra Mundial; la literatura que ha aparecido al respecto desde 1914 es voluminosa y amplia.

La mayor parte de las primeras descripciones de los bacilos anaerobios no merecen crédito porque muchos de los investigadores trabajaron con mezclas de dos o más anaerobios cuando pensaban que estaban tratando con un cultivo puro. Sólo cuando aparecieron los métodos de anaerobiosis modernos, que hicieron posible los desarrollos en superficie, la pureza de los cultivos anaeróbicos mereció confianza. Con frecuencia son necesarios cultivos repetidos en placa de estos bacilos esporulados anaerobios para obtenerlos puros.

En las heridas de guerra los bacilos anaerobios pueden siempre infectar las heridas directa o indirectamente, por la tierra contaminada con materias fecales. Se ha demostrado que la mayor parte de los bacilos anaerobios son habitantes normales del intestino del hombre y de los animales y se encuentran en gran número en los terrenos cultivados.

En la práctica civil, la gangrena gaseosa se atribuye generalmente a la presencia de *Cl. perfringens.* Sin embargo, en heridas de guerra se ha encontrado que si bien el *Cl. perfringens* se aisla de la mayoría de los casos de gangrena gaseosa, prácticamente nunca ocurre en cultivo vivo. Generalmente está asociado con aerobios y otros bacilos anaerobios, que en muchos casos resultan más patógenos que el mismo bacilo de la gangrena gaseosa.

En este libro sólo se estudiarán los bacilos anaerobios más importantes y de presentación más frecuente. Para una descripción detallada el lector puede consultar el libro de Weinberg y Seguin (1918) y la publicación del British Medical Research Committee (Douglas, Fleming y Colebrook, 1920). En Estados Unidos, Hall (1920) y Heller (1921) han logrado la purificación de muchos cultivos de estos y otros bacilos anaerobios y han hecho contribuciones valiosas al conocimiento de estos microorganismos. Las clasificaciones de Hall han sido utilizadas con las modificaciones de Ford (1927), Bergey (1948) y otros.

Los bacilos anaerobios encontrados en las heridas de guerra se pueden dividir en dos grupos generales, como propuso primero von Hibler en su libro sobre anaerobios publicado en 1908: el *sacarolítico* y el *proteolítico.*

El grupo sacarolítico incluye como sus más importantes miembros *Cl. perfringens (B. welchii), Cl. septicum* y *Cl. novyi.*

El grupo proteolítico incluye *Cl. sporogenes, Cl. histolyticum* y *Cl. lentoputrescens.*

Esta clasificación, como muchas otras, no es rígida. Significa simplemente que los miembros del grupo sacarolítico tienen mucho mayor avidez para los carbohidratos que los miembros del grupo proteolítico.

Puede demostrarse actividad proteolítica de los organismos incluídos en el grupo sacarolítico sobre medios especiales de los cuales se han suprimido todos los carbohidratos, pero en los medios ordinarios de cultivo la diferencia entre los dos grupos es notable.

Los miembros del grupo proteolítico se pueden distinguir de los del grupo sacarolítico por el hecho de que los primeros liquidan el suero coagulado de caballo. Los organismos del grupo sacarolítico no liquidan este medio aun después de prolongada incubación. En la leche, los bacilos sacarolíticos producen ácido y cantidades variables de gas. Los bacilos proteolíticos digieren la leche con producción de álcali.

Los organismos del grupo proteolítico no son patógenos por sí mismos, pero complican las heridas por su intensa acción proteolítica. Son saprófitos, no tienen poder para invadir los tejidos y si se presentan sin estar asociados con miembros del grupo sacarolítico, no suelen retrasar la curación de la herida.

Se ignora si los organismos del grupo sacarolítico son saprófitos o no lo son. De Kruif (1917) concluyó que *Cl. perfringens* no se puede clasificar como saprófito puro porque una emulsión bacilar de algunas cepas, lavada por dos veces, puede matar a los cobayos en dosis de 0,1 a 1 c. c. Pero, en este caso, aun la inyección intramuscular más cuidadosa mortificará alguna porción del tejido en el punto de inoculación y cuando dispone de una parte, por muy pequeña que sea, de tejido muerto, el bacilo puede producir una toxina de acción agresiva tremenda que mortifica el tejido con el cual se pone en contacto. Esto hace posible la invasión de los microorganismos.

Se han logrado grandes conocimientos acerca de la capacidad sintética y los requerimientos de cultivo de *Clostridia* (Bornstein y Barker, 1948).

CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

(B. welchii, B. aerogenes capsulatus)

Cl. perfringens es el microorganismo que se encuentra con mayor frecuencia en la gangrena gaseosa. Se presentó en el 72 al 80 por ciento de los casos de gangrena gaseosa estudiados durante las guerras mundiales primera y segunda (Stock, 1947). Se encuentra asociado persistentemente con los casos civiles de gangrena gaseosa y generalmente es considerada la causa más importante de esta enfermedad. Por otra parte, también debe dejarse sentado que el bacilo se presenta con frecuencia en heridas que nunca llegan a sufrir gangrena. Según Taylor, el bacilo se encontró en el 80 por ciento de todas las heridas examinadas, y sólo el 10 por ciento de éstas evolucionaron hacia la gangrena gaseosa. El desarrollo de la gangrena gaseosa depende de la virulencia de las cepas, de la cantidad de tejido muerto y de las condiciones de anaerobiosis de la herida. En las heridas de guerra el bacilo de Welch prácticamente nunca estuvo presente en cultivo puro. Por lo general estaba asociado con anaerobios de ambos tipos, el sacarolítico y el proteolítico.

Cl. perfringens fué descubierto independientemente en tres países. Primero por Welch y Nuttall en 1892, quienes lo llamaron *Bacillus aerogenes capsulatus*, nombre usado todavía por la mayor parte de los autores ingleses. En Estados Unidos se conoce generalmente este organismo como *B. welchii*. Welch lo aisló de la sangre y órganos de un cadáver ocho horas después de la muerte. En 1893, Fränkel

aisló un organismo similar en Alemania, de diversos casos de flemón gaseoso; lo llamó *B. phlegmonis emphysematosae*, pero pronto reconoció que estaba trabajando con el mismo bacilo previamente descrito por Welch. Sin embargo, en la literatura alemana todavía es denominado bacilo de Fränkel. En 1897, sin tener conocimiento de los trabajos de Welch o Fränkel, fué descrito de nuevo el organismo por Veillon y Zuber en Francia y llamado *B. perfringens. B. welchii, B. aerogenes capsulatus, bacilo de Fränkel, B. perfringens* son todos el mismo organismo.

Morfología y tinción. *Cl. perfringens* es un bacilo esporulado corto, grueso, *grampositivo*, que se presenta solo o bien en pares. Por regla general este bacilo no forma cadena. Es *inmóvil* y tiene *cápsula*.

Caracteres de cultivo. Se desarrolla mejor en condiciones estrictamente *anaerobias*, pero sus requerimientos para la anaerobiosis son menos rígidos que los de *Cl. tetani*. Se desarrolla bien en medios que contienen tejidos, tales como medios de carne cocida, después de haber sido expulsado todo el aire por simple ebullición. Con la leche, la ebullición no siempre es suficiente para obtener un buen desarrollo; es mejor colocar los tubos de leche en recipientes para anaerobiosis. La mayor parte de las cepas no forman rápidamente *esporas*. Para demostrar la formación de esporas son necesarios, con la mayoría de las cepas, medios alcalinos libres de azúcar, ricos en proteína, tales como el huevo alcalinizado. La espora de *Cl. perfringens* es grande, oval, y central o subterminal. Este es el germen más fermentativo del grupo sacarolítico: hace fermentar todos los azúcares comunes con producción de gran cantidad de gas. Los ácidos láctico y butírico son los formados más frecuentemente: el último suele dar olor característico a los cultivos. El agar glucosado es fragmentado a veces en tal grado que los bloques son expulsados del tubo (fig. 117). En las heridas, *Cl. perfringens* hace fermentar el azúcar de los músculos, produciendo gas en los tejidos; por esta razón se llama comúnmente bacilo *gaseoso*. La crepitación así producida es característica de la gangrena gaseosa e indica la extensión de la infección. La rápida fermentación de la lactosa en la leche da una reacción diagnóstica característica en este medio. El coágulo ácido roto por las burbujas de gas y la separación de la leche en coágulo y suero son reconocidos fácilmente; no se observan con los otros anaerobios.



FIG. 117. CLOSTRIDIUM PERFRINGENS.

Cultivo en agar glucosado. Fragmentación del medio por el gas, después de incubación de 24 horas a 37° C.

La siembra de un cultivo mixto de una herida en leche permite establecer el diagnóstico de *Cl. perfringens* en 12 a 18 horas. Liquida y ennegrece la gelatina, pero no forma indol en caldo; no liquida ni ennegrece el suero coagulado. El microorganismo, en definitiva, no es proteolítico.

Forma *ácido* y *gas* con glucosa, fructosa, galactosa, manosa, maltosa, sacarosa, lactosa, xilosa, trehalosa, rafinosa, almidón, glucógeno e inositol. No fermenta la manita; la acción sobre la inulina y la glicerina es variable.

Variabilidad. Verder (1933) ha descrito cinco tipos de colonias de *Cl. perfringens*. Entre éstas, el tipo liso semeja las colonias de la variedad lisa móvil del género *Salmonella*. Las colonias rugosas son de tipo difuso, con bordes finamente recortados o profundamente corrugados. La morfología de los organismos varía considerablemente. Henderson (1940) encontró que la variación S-R se acompaña en *Cl. perfringens* de pérdida del antígeno específico O.

Metabolitos bacterianos. Las cepas patógenas de *Cl. perfringens* suelen producir hialuronidasa (McClean y col., 1943) y un mucopolisacárido (Tytell y col., 1947), pero sus metabolitos más importantes son las *exotoxinas*. La toxina α es más importante y se produce en cantidades mayores, aunque asociada con pequeños aumentos de toxina θ y vestigios de toxina η (Wilsdon, 1933); Glenny y col., 1933; Oakley, 1943). La toxina α de *Cl. perfringens* es relativamente débil cuando se compara con la de *Cl. tetani* y *Cl. botulinum*; la DLM para el ratón es de unos 0,25 c.c. Estas toxinas de *Cl. perfringens* son termolábiles y se destruyen en 30 a 60 minutos por una temperatura de 70° C. También son destruídas por concentraciones débiles de ácidos. Ambas toxinas, α y θ, son fuertemente hemolíticas y mortales para ratones cobayos, conejos, palomas y ovejas. Inyectadas intracutáneamente producen lesiones necróticas. La naturaleza de la toxina α de *Cl. perfringens* ha sido ampliamente investigada. Nagler (1939) y Seiffert (1939) observaron que los filtrados tóxicos brutos producían opalescencia en los sueros humanos y que la reacción era inhibida por la antitoxina específica. Macfarlane y col. (1941) demostraron un efecto similar sobre los extractos de yema de huevo y sugirieron que la reacción podía ser de naturaleza enzimática. En el mismo año, Macfarlane y Knight demostraron que la toxina α es una *lecitinasa;* los importantes estudios de Zamecnik y col. (1947) han probado en forma definitiva que dicha toxina es una *enzima* y la antitoxina específica una *antienzima*. Este descubrimiento sugiere la posibilidad de que algunas de las otras exotoxinas también puedan ser enzimas.

Las antitoxinas para las toxinas de *Cl. perfringens* se preparan en caballos y se hallan en el comercio como antitoxina específica antiperfringens. Esta antitoxina, mezclada con las de otras especies de *Clostridia*, se vende como antitoxina polivalente de la gangrena gaseosa (Batty y Glenny, 1947).

Estructura antigénica. El material capsular es un polisacárido termoestable. Aunque todas las cepas producen las mismas exotoxinas, las precipitinorreacciones con extractos de substancia capsular y las aglutinaciones con bacilos intactos demuestran que tales cepas son heterólogas (Henderson, 1940; Orr y Reed, 1940; Rodwell, 1941; Svec y McCoy, 1944).

Cl. perfringens de tipo A, que causa la gangrena gaseosa en el hombre, tiene un antígeno termoestable (O), pero no tiene antígeno termolábil (L); *Cl. perfringens* de tipos B, C y D, que producen la gangrena gaseosa en los animales, tienen ambos antígenos O y L (Henderson, 1940).

Enfermedad espontánea en los animales. *Cl. perfringens* de tipo B *(Cl. agni)* causa disentería en los corderos; el tipo C *(Cl. paludis)* está asociado con la enfermedad de las ovejas conocida en EE. UU. con el nombre de *struck*. El tipo D *(Cl. ovitoxicus)* causa una enterotoxemia infecciosa de las ovejas. Estas variedades morfológicamente y por cultivo no pueden distinguirse de *Cl. perfringens*, tipo A, que causa la gangrena gaseosa en el hombre, pero se pueden diferenciar por análisis antigénico y por las exotoxinas que producen (Wilsdon, 1933; Glenny y col., 1933). La tabla siguiente ha sido establecida con los datos publicados por Oakley (1943).

EXOTOXINAS DE LOS TIPOS HUMANO Y ANIMAL DE CL. PERFRINGENS

TIPO DE ENFERMEDAD CLÍNICA	MICROORGANISMO	TIPOS DE WILSDON	EXOTOXINAS						
			α	β	γ	δ	ε	θ	η
Gangrena gaseosa en el hombre	*Cl. perfringens (B. welchii)*	A	++	—	—	—	—	+	±
Disentería en los corderos	*Cl. perfringens (B. agni)*	B	+	++	+	+	+	?+	?
Struck de las ovejas	*Cl. perfringens (B. paludis)*	C	+	++	+	++	—	?+	?
Enterotoxemia de las ovejas	*Cl. perfringens (B. ovitoxicus)*	D	+	—	—	—	++	?+	?

Enfermedad experimental en animales de laboratorio. Los cobayos y palomas son los animales de laboratorio más susceptibles; los conejos también pueden ser infectados. Los animales suelen morir en 12 a 48 horas. En la necropsia, la piel en el sitio de la inyección está tensa y tiene color rojo obscuro o purpúreo. Los músculos y tejidos subcutáneos están indurados y crepitantes por la presencia de pequeñas burbujas de gas. A la incisión fluye un líquido claro, acuoso, teñido de sangre, con gas que huele a sulfuro de hidrógeno.

La inoculación animal es útil tanto para el *aislamiento* como para la *identificación* de *Cl. perfringens.* El material sospechoso de contener *Cl. perfringens* se inyecta intravenosamente a un conejo. Después de cinco minutos se mata al conejo y se coloca en la incubadora durante 5 a 8 horas. Al cabo de este tiempo el animal se encuentra distendido por el gas. En la necropsia se encontrarán burbujas de gas distribuídas por todos los órganos, especialmente en el hígado. Si hay *Cl. perfringens* suele poderse aislar del hígado y de la sangre del corazón. También se pueden identificar los cultivos inyectándolos intramuscularmente a dos cobayos, uno normal y el otro protegido por una dosis de antitoxina de *Cl. perfringens.* Si ambos cobayos mueren y se aisla un microorganismo anaerobio de la sangre del corazón, ello indica la presencia de otro anaerobio patógeno que no es *Cl. perfringens.* Si el cobayo normal muere con un bacilo grampositivo anaerobio e inmóvil en la sangre del corazón y el cobayo protegido sobrevive, es casi seguro que el organismo en cuestión es *Cl. perfringens.*

Tipos clínicos de infección en el hombre. *Cl. perfringens* es huésped normal del intestino del hombre y de los animales (Simonds, 1915), pero es inofensivo mientras no invada el organismo a través de una perforación intestinal. Sin embargo, son sorprendentemente pocos los casos de gangrena gaseosa que siguen a la ruptura del apéndice. La tierra muy abonada suele contener abundantes *Cl. tetani, Cl. perfringens* y otros *Clostridia* portadores de esporas. Toda herida contaminada por tierra o materiales que han estado en contacto con el suelo puede hallarse infectada por anaerobios esporulados. Generalmente el desarrollo de gas en los tejidos contiguos a la herida va precedido de fenómenos de toxemia y se produce una anemia progresiva rápida por la acción hemolítica de la toxina. La infección con *Cl. perfringens* puede ocurrir en ausencia de una verdadera *herida.* Un paciente de nuestra clínica que sufría una hemorragia incontenible de la nariz fué

tratado por taponamiento apretado de la nariz con algodón esterilizado. Las esporas de *Cl. perfringens*, probablemente inhaladas con el polvo antes que la nariz fuera taponada, encontraron condiciones anaerobias favorables para su desarrollo y produjeron una infección rápidamente mortal.

CLOSTRIDIUM SEPTICUM

(Vibrion septique)

Cl. septicum fué descrito primeramente por Pasteur en 1877, quien lo aisló de la sangre de una vaca muerta desde hacía tres días y de la sangre de un caballo un día después de muerto, fallecidos ambos presumiblemente de carbunco. Aunque este microorganismo es un bacilo, Pasteur lo llamó vibrión a causa de su motilidad extrema en los exudados animales y su aspecto ligeramente curvado cuando está en movimiento. Koch, en 1881, mientras estudiaba la etiología del carbunco, aisló un microorganismo que llamó bacilo del edema maligno. Lo consideró idéntico a *Vibrion septique* de Pasteur, si bien el bacilo del edema maligno tenía intenso poder proteolítico que Pasteur no mencionó al describirlo. De esta controversia ha surgido mucha confusión. La mayor parte de los investigadores consideran ahora que Pasteur estaba trabajando con un microorganismo estrictamente sacarolítico idéntico al ahora llamado *Cl. septicum*. El bacilo del edema maligno de Koch se cree que pertenece al grupo proteolítico y sería idéntico a *Cl. sporogenes*.

Cl. septicum ha sido aislado de la leche. En 1920, Heller demostró que ocurrían infecciones espontáneas por *Cl. septicum* en ovejas, caballos y cerdos; Meyer, en 1915, publicó el aislamiento de microorganismos típicos en dos casos de carbunco sintomático en cerdos. El ganado vacuno, según Heller, es menos sensible a la infección que los otros animales mencionados. Los herbívoros están sujetos a infecciones con *Cl. septicum*, tanto en presencia como en ausencia de heridas demostrables, mientras que las infecciones en el hombre parecen ocurrir solamente como resultado de heridas.

Cl. septicum, según Weinberg y Seguin (1918), se hallaba en el 12 por ciento de las heridas por ellos examinadas y Henry (1917) lo aisló en el 16 por ciento de sus casos. Antes de la primera Guerra Mundial, los casos de gangrena gaseosa humana debidos únicamente a *Cl. septicum* eran muy pocos.

Cl. septicum es un bacilo fino, *grampositivo*, *móvil*, con extremos algo redondeados. Es *anaerobio* estricto y forma rápidamente *esporas* en la mayor parte de los medios. La espora es *oval*, de localización *central o subterminal*; aparece al cabo de 24 a 48 horas. *No tiene cápsula*. Hace fermentar los azúcares comunes, con excepción de la sacarosa, y produce coágulo poco consistente en la leche en el término de uno a cuatro días. Liquida la gelatina pero no ataca al suero coagulado. *Cl. septicum* es *hemolítico*. Es patógeno para cobayos, ratones, palomas y conejos. Invade la corriente sanguínea produciendo septicemia. La aparición de formas filamentosas largas en el hígado de los caballos muertos por infecciones de *Cl. septicum* es característica y tiene valor para identificar el microorganismo.

Cl. septicum da fluorescencia verde cuando se desarrolla en un medio que contenga sales biliares, como el de MacConkey. *Cl. feseri* y *Cl. novyi* no producen fluorescencia.

Todas las cepas de *Cl. septicum* producen poderosas *exotoxinas* solubles, aun aquellas que han perdido la capacidad de infectar a los animales (Robertson, 1929). La toxina, como la de *Cl. perfringens*, no requiere período de incubación para actuar. La toxina de *Cl. septicum* suele producir necrosis local y no mata los coba-

yos cuando se inyecta subcutánea o intramuscularmente. La producción de toxina se comprueba en conejos y cobayos por inyección intravenosa: 0,5 c.c. de toxina inyectada intravenosamente mata a un cobayo en cinco minutos; 0,1 a 1 c.c. inyectada intravenosamente a conejos los mata sin período de latencia, con disnea, parálisis y convulsiones. Como existen grandes variaciones individuales es difícil establecer una DLM para conejos del mismo peso. En un conejo puede producir la muerte inmediatamente, mientras que otro del mismo peso puede presentar síntomas graves seguidos de restablecimiento. Estas pruebas, sin embargo, no han sido hechas con animales genéticamente uniformes.

Estructura antigénica. Las cepas de *Cl. septicum* se pueden diferenciar en cuatro grupos por medio de sus antígenos O; cada grupo puede ser subdividido en tipos específicos de aglutinación H. Hay cierto grado de reacción cruzada entre los antígenos O (pero no entre los H) de *Cl. septicum* y *Cl. feseri (Cl. chauvoei)* (Robertson, 1929; Henderson, 1934).

CLOSTRIDIUM FESERI

(Bacillus anthracis symptomatici, Rauschbrand, Charbon symptomatique, *Sarcemnysematis bovis, Clostridium chauvoei)*

El carbunco sintomático es una enfermedad infecciosa que sufre principalmente el ganado lanar, vacuno y cabrío. *Nunca ha sido observada la enfermedad en el hombre.* Antiguamente fué confundido con el carbunco verdadero a causa de la similitud superficial entre los síntomas clínicos de las dos enfermedades. Bacteriológicamente, los dos microorganismos son de clases enteramente diferentes.

El carbunco sintomático está ampliamente distribuido. La infección suele adquirirse por intermedio de la tierra, en la cual se halla el bacilo en forma de esporas que conservan su viabilidad por años.

Morfología y tinción. El bacilo del carbunco sintomático tiene los extremos redondeados y mide alrededor de 4 a 6 μ de largo y 0,5 a 0,6 μ de ancho. Suele presentarse aislado y nunca forma cadenas largas. En su forma vegetativa es *activamente móvil* y posee numerosos flagelos. En medios artificiales forma *esporas ovales*, más anchas que el bacilo mismo y colocadas muy cerca del extremo del cuerpo bacilar, dando al bacilo un aspecto en raqueta (fig. 118). Se tiñe rápidamente con los colorantes usuales de anilina, pero se decolora con facilidad por el método de Gram. Von Hibler (1908), sin embargo, asegura que si el bacilo se tiñe con el debido cuidado, es *grampositivo*, por lo menos cuando se obtiene del organismo animal. *Clostridium feseri* es también grampositivo en los cultivos jóvenes.

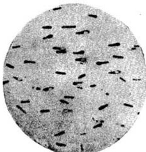


FIG. 118. CLOSTRIDIUM FESERI. (Según Zettnow.)

Caracteres de cultivo. El microorganismo es *anaerobio estricto*. Fué obtenido primero en cultivo puro por Kitasato (1889) en condiciones anaerobias, pero se

cultiva fácilmente en los medios corrientes de laboratorio, todos los cuales resultan más adecuados por adición de glucosa, glicerina o nutrosa (preparado a base de caseína). En todos los medios hay formación activa de gas y *olor fétido acre* causado por ácido butírico; el bacilo se desarrolla igualmente bien en medios ligeramente ácidos o ligeramente alcalinos. Las colonias superficiales en *placas de agar* son circulares y constan de un centro compacto, ligeramente granular, del que emana una zona periférica más delgada, que el microscopio demuestra formada por una maraña de hebras finas.

En cultivo por picadura en *columna de agar*, a 37,5° C., el desarrollo aparece en las 18 horas, extendiéndose rápidamente como nube fina, difusa, desde la línea central. La producción de gas, especialmente cerca del fondo del tubo, lleva pronto a la formación de burbujas y más tarde a la ruptura extensa del medio. En los cultivos por *picadura en gelatina* el desarrollo es similar al de las columnas de agar, aunque menos rápido. Los cultivos por picaduras en *gelatina* producen *licuefacción*.

Cl. feseri fermenta la glucosa, maltosa, lactosa y sacarosa, con producción de ácido y gas. No fermenta la manita ni la salicina. No produce indol.

Metabolitos bacterianos. Según las investigaciones de Lechainche y Vallée (1900), el bacilo del carbunco sintomático produce una exotoxina. Esta toxina no se forma en caldo ordinario, pero se produce en grandes cantidades de caldo que contenga sangre o líquidos animales albuminosos.

El mejor medio para obtener la toxina, según los mismos autores, es el caldo de Martin (1898), que se compone de partes iguales de infusión de ternera y solución de peptona obtenida de estómago macerado de cerdo.

En filtrados de cultivos de *Cl. feseri*, las toxinas fueron vueltas a investigar en 1923 y 1925 por Kojima y Bassett. La revisión de este trabajo por Robertson (1929) indica que hay en ellos dos toxinas, una letal y otra hemolítica. Estas toxinas se destruyen a 52° C., en 30 a 60 minutos. Tales filtrados libres de bacterias, como la *agresina* obtenida por Schöbl en filtrados o líquido de los tejidos infectados, son antigénicos y útiles para la inmunización profiláctica de los animales que puedan estar expuestos a la infección.

Poder patógeno. Los bacilos del carbunco sintomático son patógenos para vacas, ovejas y cabras. El mayor número de casos, y posiblemente los únicos espontáneos, aparecen en el ganado vacuno. Los cobayos son muy sensibles a la inoculación experimental; los caballos, ligeramente; los perros, gatos, conejos y aves son inmunes. El hombre parece ser absolutamente inmune. La infección espontánea resulta de la entrada de tierra infectada en erosiones o heridas, generalmente de las extremidades posteriores. La infección depende hasta cierto punto del grado relativo de virulencia del bacilo, variable en esta especie. Doce a 24 horas después de la inoculación aparece en el punto de entrada una hinchazón blanda que a la palpación da crepitación enfisematosa. El enfisema se extiende rápidamente; con frecuencia en un día abarca el abdomen y el tórax. El curso de la enfermedad es agudo en extremo, la fiebre alta y la postración general muy intensa. La muerte puede sobrevenir tres o cuatro días después de la inoculación.

En la necropsia la zona inflamada se encuentra infiltrada de exudado espumoso, espeso y teñido en sangre. El tejido subcutáneo y los músculos están edematosos y crepitan por el gas. Los órganos internos presentan degeneración parenquimatosa y zonas hemorrágicas. Inmediatamente después de la muerte se encuentran algunos bacilos en la sangre y en los órganos internos, pero se pueden demostrar en número enorme en el líquido del edema que rodea al foco central.

Si se dejan los cadáveres sin enterrar por algún tiempo los bacilos pueden difundir: todo el cuerpo se encuentra hinchado por el gas y los órganos internos llenos de burbujas. Condiciones prácticamente idénticas se producen después de la inoculación experimental.

Prevención. La inmunización activa contra el bacilo del carbunco sintomático fué lograda primero por Arloing y sus colaboradores (1887), quienes inocularon ganado vacuno con extractos de tejidos de animales infectados. Estos autores crearon un método práctico de inmunización, que se efectúa como sigue:

Se preparan dos vacunas. La Vacuna I consiste en jugo de carne infectada, desecado y calentado a 100° C. durante seis horas; la Vacuna II es un jugo de carne similar, calentado a 90° C. durante el mismo tiempo. En el proceso de calentamiento, las esporas contenidas en las vacunas se atenúan en grado diverso. La Vacuna I se emulsiona en 0,01 a 0,02 c.c. de solución salina estéril y se inyecta cerca del extremo de la cola del animal que se trata de proteger. La misma cantidad de Vacuna II se inyecta del mismo modo 14 días después.

Este método se ha conservado en principio, pero grandemente modificado en detalle por diversos investigadores. Kitt introdujo el uso de la carne total desecada y pulverizada en lugar de jugo de carne y preparó una sola vacuna, calentada a 94° C. durante seis horas. Este método ha sido usado en Estados Unidos, pero la vacuna debe ser valorada con cuidado (Haslam y Franklin, 1920). La inmunización pasiva con sueros de ovejas y cabras inmunizadas activamente se ha usado en combinación con la inmunización activa.

Para la inmunización activa se han empleado otros dos métodos. En uno de ellos el jugo filtrado, obtenido por expresión del músculo infectado, se inyecta subcutáneamente. Este filtrado libre de bacterias contiene la llamada *agresina*. En el segundo método se utilizan los filtrados libres de bacterias de los cultivos en caldo. Estas toxinas estimulan la producción de un alto grado de inmunidad. *La inmunización por inyección de toxina* probablemente desplazará a todos los otros métodos (Robertson, 1929).

Diferenciación de Cl. septicum (Vibrion septique) y Cl. feseri (Cl. chauvoei). Aunque *Cl. feseri* no infecta al hombre, ambos, *Cl. feseri* y *Cl. septicum*, son causa frecuente de enfermedad en los animales. Estos dos microorganismos están estrechamente relacionados y son muy similares morfológicamente, lo cual hace difícil establecer una diferenciación segura. Robertson (1929) distingue *Cl. feseri* de *Cl. septicum* por el hecho de que el primero hace fermentar la sacarosa y no la salicina, mientras que *Cl. septicum* hace fermentar la salicina y no la sacarosa. En el hígado de los cobayos muertos por infección de *Cl. septicum* pueden demostrarse largos filamentos serpenteados; tales formas faltan en absoluto en las infecciones por *Cl. feseri*. *Cl. septicum* es más patógeno para los animales de laboratorio y produce más gas en los tejidos, mientras que *Cl. feseri* se desarrolla lentamente. Las pruebas de protección utilizando una antitoxina para *Cl. septicum* serán las mejores con el fin de identificar este microorganismo.

CLOSTRIDIUM NOVYI

(B. oedematiens)

Cl. novyi se parece a *Cl. septicum* en que ambos producen infecciones primarias en los animales que a su vez contaminan la tierra, y de ese modo crean una fuente de infecciones humanas.

El organismo fué aislado por Novy, en 1894, de los cobayos con "edema maligno". Durante la primera Guerra Mundial, Weinberg y Seguin (1918) encontraron este

bacilo en el 34 por ciento de las heridas estudiadas. Durante el mismo período, Henry (1917) lo aisló solamente en el 10 por ciento. En Europa se utiliza el nombre francés *B. oedematiens* en lugar de *Cl. novyi*. Este organismo es *anaerobio estricto*, bacilo grande, *grampositivo*, de aspecto semejante a *B. anthracis*. Es *perezosamente móvil*. Se dispone en cadena en los cultivos y después de dos o tres días suele presentar formas curvas. En el organismo animal no forma filamentos. Forma rápidamente *esporas ovales subterminales* en todos los medios. Hace fermentar la mayor parte de los azúcares comunes, excepto la *lactosa*, lo cual sirve para diferenciarlo de *Cl. septicum* y de *Cl. feseri*. Forma en la leche un coágulo poco consistente en tres o cuatro días, liquida la gelatina pero no ataca al suero coagulado.

Metabolitos bacterianos. En condiciones anaerobias de desarrollo produce *peróxido de hidrógeno* y las colonias llegan a ser de color negro cuando se siembra en agar-sangre que contenga bencedrina (Gordon y McLeod, 1940). Esta reacción diferencia a *Cl. novyi* de los otros anaerobios esporulados.

La *exotoxina* es particularmente activa y ha sido estudiada en detalle por Oakley y colaboradores (1947). La reacción característica es un edema gelatinoso no hemorrágico en los músculos, y alteraciones degenerativas en bazo y riñones (Pasternack y Bengtson, 1940). Se ha preparado una antitoxina específica que suele incluirse en las antitoxinas polivalentes contra la gangrena gaseosa.

Poder patógeno. Se han observado infecciones espontáneas en cobayos, vacas, caballos y cerdos. Se pueden provocar infecciones en conejos y ratones, así como en las especies naturalmente susceptibles.

En las infecciones humanas, el edema masivo y la toxemia son los síntomas salientes. En contraste con lo que ocurre en las infecciones por *Cl. perfringens*, hay poco gas; la necrosis serosanguinolenta característica de las infecciones por *Cl. septicum* no existe.

CLOSTRIDIUM FALLAX

Cl. fallax fué descubierto durante la primera Guerra Mundial por Weinberg y Seguin (1918). Es un factor mucho menos importante de gangrena gaseosa que los miembros del grupo sacarolítico ya descritos; suele ir asociado con otros anaerobios patógenos. Weinberg y Seguin (1918) citan un caso en el cual invadió la corriente sanguínea y causó la muerte. Fué aislado por Henry (1917) en tres casos de una serie de 50.

Es un *bacilo anaerobio grampositivo*, de aspecto semejante a *Cl. septicum*. Tiene *cápsula* y es *ligeramente móvil*. *No forma fácilmente esporas* en la mayor parte de los medios de cultivo; sí las produce en suero coagulado. Las esporas son *centrales* o *subterminales*.

Cl. fallax coagula lentamente la leche, pero no liquida la gelatina ni el suero coagulado. No es hemolítico y sólo moderadamente patógeno; la virulencia la pierde rápidamente por cultivo artificial.

LOS CLOSTRIDIA PROTEOLITICOS

Los organismos del grupo proteolítico no producen gangrena gaseosa si no están acompañados de uno o más bacilos del grupo sacarolítico. Los miembros del grupo proteolítico digieren la leche sin la formación de coágulo y liquidan y con frecuencia ennegrecen el suero coagulado. Estas dos características, junto con el hecho de que

los cultivos de organismos proteolíticos suelen tener un olor muy ofensivo, hacen relativamente fácil distinguirlos de los del grupo sacarolítico. El tipo proteolítico hace fermentar los azúcares, pero la fermentación es menos rápida que la observada en el grupo sacarolítico y se producen ácido y gas en menores cantidades. Los miembros del grupo proteolítico producen rápidamente esporas en todos los medios. Ninguno de estos organismos es muy patógeno ni da lugar a cuadros generales de toxemia a despecho de su poder de causar una tremenda licuefacción de los tejidos. Los fermentos de varios de los anaerobios proteolíticos han sido aislados y se ha encontrado que escinden las proteínas en aminoácidos tan rápidamente que no dan tiempo a que se formen productos intermedios que intoxiquen a los animales. Separar los anaerobios proteolíticos de los sacarolíticos es en extremo difícil. Los miembros de los dos grupos suelen presentarse juntos y aquello que parece ser un cultivo puro de un organismo sacarolítico, si se conserva por algún tiempo, suele mostrar contaminación con un organismo proteolítico. Los mejores métodos para separar los dos grupos son: 1) el rápido trasplante a medios azucarados, donde los organismos sacarolíticos se desarrollan mejor que los proteolíticos; 2) siembra repetida en placa; 3) inoculación animal. El último es el que da mejores resultados. En el cuerpo animal, después de la inyección intramuscular, los microorganismos más patógenos pertenecientes al grupo sacarolítico suelen invadir la corriente sanguínea y pueden aislarse de la sangre del corazón.

Cl. sporogenes. Este organismo fué el encontrado más frecuentemente en los cultivos de heridas después de *Cl. perfringens.* Weinberg y Seguin (1918) lo aislaron en el 27 por ciento de sus casos. *Cl. sporogenes* era casi siempre el anaerobio responsable del olor fétido de las heridas. Según la mayor parte de los autores, el poder patógeno de este microorganismo es insignificante. Weinberg y Seguin (1918) pretenden haber aislado algunas cepas tóxicas, pero es posible que hayan estado mezcladas con miembros del grupo sacarolítico. Heller (1920) no ha encontrado anaerobio proteolítico alguno que sea patógeno para los animales.

Cl. sporogenes fué descrito por Metchnikoff en 1908. Nunca se sabrá si es o no idéntico al bacilo del edema maligno de Koch. Se le considera idéntico por muchos investigadores, mientras que otros niegan tal identidad. *Cl. sporogenes* es un bacilo *anaerobio, grampositivo, activamente móvil,* que forma rápidamente *esporas ovales subterminales* en todos los medios y en el organismo animal. Es *intensamente proteolítico;* liquida la gelatina y el suero coagulado y digiere y ennegrece la carne. La mayor parte de las cepas de *Cl. sporogenes* no son hemolíticas. En ocasiones se puede aislar alguna cepa que lo es débilmente. No produce toxina soluble ni es patógeno para los animales de laboratorio, a menos que se inyecte en grandes cantidades.

Cl. histolyticum. Este organismo fué descubierto por Weinberg y Seguin (1918), quienes lo aislaron de ocho cultivos de heridas. Lo mismo que *Cl. sporogenes,* es *intensamente proteolítico* y tiene interés principalmente a causa de las lesiones tan notables que produce en el organismo animal. Es un *bacilo móvil, anaerobio, grampositivo,* con *extremos redondeados.* La esporulación tiene lugar en todos los medios; las diferentes cepas requieren tiempos variables para formar esporas. Las *esporas* son *grandes, ovales* y ocupan *posición terminal.* No se forma gas en los cultivos de *Cl. histolyticum ni desarrollan olor pútrido.* Liquida la gelatina y el suero coagulado. No produce toxina soluble ni es hemolítico. La inyección intramuscular de 2 a 3 c.c. del cultivo total a un cobayo causa una digestión de los tejidos tan rápida que en 12 a 24 horas el hueso puede quedar al descubierto. El cuadro es de lo más notable, ya que una de las características de la infección por *Cl. histolyticum* es que el animal sigue en buen estado a despecho de las tremendas lesiones locales.

Cl. lentoputrescens. Fué descubierto primero, en 1889, por Bienstock en el intestino de un cadáver. Es *anaerobio, grampositivo, móvil;* forma *esporas ovales terminales* en todos los medios. Es *activamente proteolítico* y produce olor fétido. No se han aislado cepas patógenas. Ha sido estudiado por Tissier y Martally, quienes lo encontraron en la carne pútrida. Klein trabajó en un organismo similar al cual denominó *B. sporogenes cadaveris.* Hibler considera que *Cl. lentoputrescens* y *B. sporogenes cadaveris* son el mismo.

Con el nombre de *putrificus* se han descrito varios anaerobios y ha sido difícil identificar a cualquiera de ellos con el microorganismo de Bienstock. Hartsell y Rettger (1934), después de una investigación a fondo, concluyen que *Clostridium putrificum* (Reddish y Rettger, 1923) es una especie distinta. Proponen el nombre de *Clostridium lentoputrificum* para este organismo.

IDENTIFICACION DE ANAEROBIOS PRESENTES EN CULTIVOS DE HERIDAS

Para tratar las heridas infectadas con suero específico, lo más importante es la pronta identificación de los miembros del grupo sacarolítico, *Cl. perfringens, Cl. novyi* y *Cl. septicum.* El proceso de purificación e identificación por métodos de cultivo, en el mejor de los casos es lento; Henry (1917), por lo tanto, propone inocular el material desconocido a cobayos inmunizados, como el método más rápido y seguro. El procedimiento es como sigue:

Sembrar el cultivo mixto desconocido en un medio de carne cocida e incubar. Al día siguiente sembrar el líquido que sobrenada en leche e inyectarlo intramuscularmente a dos cobayos inmunizados, de los cuales uno recibió una mezcla de antitoxina de *Cl. perfringens* y *Cl. septicum* y el otro una mezcla de antitoxina de *Cl. perfringens* y *Cl. novyi.* La fermentación tumultuosa de la leche permite identificar *Cl. perfringens* y esta reacción tiene lugar en 24 horas. Si el cobayo que fué protegido contra *Cl. septicum* (habiendo sido eliminado en ambos cobayos el factor *Cl. perfringens)* muere, ello indica la presencia de otro anaerobio patógeno, probablemente *Cl. novyi.* El diagnóstico de *Cl. novyi* resulta más probable todavía si el cobayo que recibió la combinación de sueros *Cl. novyi* sobrevive. Si las inoculaciones animales resultan diferentes, ello indica la presencia de *Cl. septicum.* El microorganismo patógeno suele poderse aislar de la sangre del corazón de los animales que sucumben. Usando de esta forma un *filtro* de cobayos protegidos, los organismos patógenos pueden ser identificados y el suero específico inyectado al paciente en el plazo de 48 horas.

La diferenciación en el cultivo se facilita por la "reacción de Nagler". Las toxinas de cierto número de anaerobios tienen la capacidad de escindir el material graso insaponificable; cuando éste tiene lugar, se forma un precipitado en la periferia de la colonia. Las colonias que muestran este fenómeno pueden ser transferidas a placas de agar que contienen antitoxina específica; la inhibición del precipitado por la antitoxina específica identifica al organismo (para detalles del método, véase McClung y colaboradores, 1946).

CIRUGIA Y BACTERIOLOGIA EN EL TRATAMIENTO DE HERIDAS TRAUMATICAS

La manipulación de las heridas traumáticas mejoró considerablemente como resultado de la experiencia adquirida por los cirujanos durante la primera Guerra Mundial. El primer paso para eliminar la infección en tales heridas fué logrado por el desbridamiento, esto es, la excisión o extirpación de todos los tejidos mortificados y contaminados, junto con cuerpos extraños como cascos de proyectil y

ropa. Esta cuidadosa limpieza mecánica de la herida ha resultado más eficaz todavía para tratar heridas traumáticas en la población civil. Con el material extirpado de las heridas deben hacerse frotis y cultivos (Carrel y De Helly, 1919; Pool, 1919; Heller y col., 1946).

En la segunda Guerra Mundial, la mortalidad por heridas se redujo a un vigésimo de la registrada durante la primera, a pesar de que las heridas en general eran más graves. Esta diferencia se puede explicar por la ventaja de disponer de *sulfonamidas, penicilina, plasma* y *sangre*.

Si el paciente no ha sido previamente inmunizado con toxoide tetánico debe proporcionársele *inmunización pasiva* con *antitoxina tetánica* tan pronto como se hayan completado las cutirreacciones para investigar la hipersensibilidad (pág. 209); la administración se repite después de dos semanas si la herida no ha curado o si se intentan nuevas intervenciones operatorias. Los pacientes inmunizados deben recibir una dosis *reactivadora* de *toxoide tetánico*. Tan pronto como se haya establecido el diagnóstico de gangrena gaseosa, por observación clínica o por estudios de laboratorio, debe administrarse antitoxina *polivalente para gangrena gaseosa*.

Los gérmenes *Clostridia* son poco peligrosos en ausencia de tejido mortificado o de cocos piógenos. Las *sulfonamidas* y la *penicilina*, en algunos casos la *estreptomicina*, son de la mayor eficacia para dominar las infecciones asociadas.

La *inmunización activa* se puede provocar en los animales y en el hombre por inyección de toxoides formolados obtenidos de toxinas de *Cl. perfringens* y *Cl. novyi* (Tytell y col., 1947). Se han obtenido buenos títulos de antitoxina con dos dosis seguidas de una tercera dosis activadora administrada tres a nueve meses después. Las reacciones locales no son más intensas que las consecutivas a la inyección de los correspondientes toxoides de tétanos y difteria. Las mezclas de los dos toxoides producen inmunidad simultánea para ambas toxinas. Quizá puedan prepararse toxoides polivalentes que produzcan inmunidad activa para todos los microorganismos del grupo de la gangrena gaseosa.

BIBLIOGRAFIA

ARLOING, CORNEVIN, and THOMAS. *Le charbon Symptomatique du Boeuf*, Paris, 1887.
BASSETT, J. *Bull. Soc. centr. de méd. vét.*, 1925, 78:393.
BATTY, I., and GLENNY, A. T. *Brit. J. Exper. Path.*, 1947, 28:110.
BORNSTEIN, B. T., and BARKER, H. A. *J. Bacteriol.*, 1948, 55:223.
BREED, R. S., MURRAY, E. G. D., and HITCHENS, A. P. Bergey's *Manual of Determinative Bacteriology*, Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1948.
CARREL and DE HELLY. *The Treatment of Infected Wounds*, New York, 1919.
DE KRUIF. *J. Infect. Dis.*, 1917, 21:6.
DOUGLAS, S. R., FLEMING, A., and COLEBROOK, L. *Studies in Wound Infection*. Medical Research Council, Spec. Rep. Ser. Nº 57, London, 1920.
FORD, W. W. *Textbook of Bacteriology*, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1927.
FRÄNKEL. *Centralbl. f. Bakteriol.*, 1893, 13:13.
GLENNY, A. T., BARR, M., LLEWELLYN-JONES, M., DALLING, T., ROSS, H. E. *J. Path. & Bacteriol.*, 1933, 37:53.
GORDON, J., MCLEOD, J. W. *J. Path. & Bacteriol.*, 1940, 50:167.
HALL, I. *J. Infect. Dis.*, 1922, 30:445; 1920, 27:576.
HARTSELL, E., and RETTGER, L. F. *J. Bacteriol.*, 1934, 27:19.
HASLAM, T. P., and FRANKLIN, O. M. *J. Infect. Dis.*, 1920, 26:424.
HELLER, G., FREEMAN, M. E., SHOPE, N. H., and KINDRICK, R. H. *Surg. Gynec., & Obs.*, 1946, 83:343.
HELLER, H. H. *J. Bacteriol.*, 1921, 6:445, 521.
——— *J. Infect. Dis.*, 1920, 27:385.
HENDERSON, D. W. *Brit. J. Exper. Path.*, 1934, 15:166.
HENDERSON, D. W. *J. Hyg.*, 1940, 40:501.
HENRY. *J. Path. & Bacteriol.*, 1917, 21:244.
HENRY and LACY. *J. Path. & Bacteriol.*, 1920, 32:3.

Kitasato, S. *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, 1889, 6.
Koch. *Mitt. a. d. k. Gsndhtsamte.*, 1881, 1:53.
Kojima, J. *Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therap.*, 1923, 37:170, 185.
Leclainche and Vallée. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1900, 14:590.
Macfarlane, M. G., and Knight, B. C. J. G. *Biochem. J.*, 1941, 35:884.
Macfarlane, R. G., Oakley, C. L., and Anderson, C. G. *J. Path. & Bacteriol.*, 1941, 52:99.
McClean, D., Rogers, H. J., and Williams, B. W. *Lancet*, 1943, 1:355.
McClung, L. S., Heidenreich, P. A., and Toabe, R. *J. Bacteriol.*, 1946, 51:751.
McCoy, E., and McLung, L. S. *Bacteriol. Rev.*, 1938, 2:47.
Martin. *Ann. de l'Inst. Pasteur.* 1898.
Metchnikoff. *Ann. de l'Inst. Pasteur.* 1908, 22:419.
Meyer. *J. Infect. Dis.*, 1915, 12:458.
Nagler, F. P. O. *Brit. J. Exper. Path.*, 1939, 20:473.
Novy. *Ztschr. f. Hyg.*, 1894, 17:209.
Oakley, C. L. *Bull. Hyg.*, 1943, 18:781.
———, Warrack, G. H., and Clark, P. H. *J. Gen. Microb.*, 1947, 1:91.
Orr, J. H., and Reed, G. B. *J. Bacteriol.*, 1940, 40:441.
Pasternack, J. G., and Bengtson, I. A. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1940, 55:775.
Pasteur and Joubert. *Bull. Acad. med. Par.*, 1877, 6:781.
Pool, E. H. *J.A.M.A.*, 1919, 73.
Reddish, G. F. *J. Bacteriol.*, 1924, 9:320.
——— and Rettger, L. F. *J. Bacteriol.*, 1922, 7:505; 1923, 8:375.
Robertson, M. *J. Path. & Bacteriol.*, 1920, 23:153.
——— *A System of Bacteriology in Relation to Medicine*, London, 1929, 3:270. Bibliografía 46, 47 y 49, tomada de este trabajo.
Rodwell, A. W. *Aust. Vet. J.*, 1941, 17:58.
Schöbl, U. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt., 1910, 56:395; 1912, 62:296.
Seiffert, G. *Ztschr. f. Immunitätsforsch, u. exper. Therap.*, 1939, 96:515.
Simonds, J. P. Monogr. Nº 5, Rockefeller Inst. M. Research, 1915.
Stock, A. H. *J. Bacteriol.*, 1947, 54:169.
Svec, M. H., and McCoy, E. *J. Bacteriol.*, 1944, 48:31.
Tytell, A. A., Logan, M. A., Tytell, A. G., and Tepper, J. L. *J. Immunol.*, 1947, 55:233.
———, Logan, M. A., and Tytell, A. G. *J. Bacteriol.*, 1947, 54:274.
Veillon and Zuber. *Arch. de. méd. exper.*, 1898, 10:517.
Verder, E. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1933, 30:547.
Von Hibler. Véase Kolle and Wassermann, *Handbuch*, etc., 2nd ed., Vol. IV, 792.
——— *Untersuchungen über die pathogenen Anaeroben*, Jena, 1908.
Weinberg, M., and Seguin, P. *La gangrène gazeuse*, Paris, 1918.
Welch and Nuttall. *Johns Hopkins Hosp. Bull.*, 1892, 3:81.
Wilsdon, A. J. Third Rept. Directors, Inst. Anim. Path., Cambridge, 1933, p. 46.
Zamecnik, P. C., Brewster, L. E., and Lipmann, F. *J. Exper. M.*, 1947, 85:381.

CAPITULO XLIII

BACILOS ANAEROBIOS E INTOXICACION ALIMENTICIA

CLOSTRIDIUM BOTULINUM Y BOTULISMO

Familia: *Bacillaceae* Fischer. Género: *Clostridium* Prazmowski. Especie: *Clostridium botulinum* (Van Ermengem) Holland

La intoxicación por la carne fué considerada antiguamente como un envenenamiento resultante de alteraciones que sufría la carne infectada, con producción de ptomaínas u otros productos nocivos de la putrefacción bacteriana. Fué solamente en 1888 que algunos de estos casos fueron reconocidos como verdaderas infecciones bacterianas en las cuales venenos preformados jugaban probablemente el papel de ayudar al establecimiento de la infección. Gaertner en ese año descubrió *Salmonella enteritidis* y demostró su presencia tanto en la carne infectante como en el intestino de los pacientes.

Hay, sin embargo, otro tipo de intoxicación cárnea que no sólo es mucho más grave, sino que se caracteriza por una toxemia general profunda. El organismo causante de este tipo de intoxicación alimenticia fué primero observado por Van Ermengem en 1896 y llamado *Bacillus botulinus*. Van Ermengem aisló el bacilo de un jamón curado, la ingestión del cual había causado enfermedad en gran número de personas. Todos los 34 individuos que lo habían comido cayeron enfermos, 10 de ellos muy gravemente. Van Ermengem encontró gran número de los bacilos entre las fibras musculares del jamón y pudo cultivar el mismo microorganismo del estómago y del bazo de un paciente que murió.

La presencia de los bacilos en el bazo de este caso probablemente provino de una invasión terminal, ya que es extremadamente raro que estos microorganismos invadan los tejidos del hombre o de los animales.

Aunque los casos registrados originalmente fueron ejemplos de intoxicación por la carne, se han observado también por consumo de vegetales enlatados.

El estudio de las toxinas producidas por los microorganismos del botulismo revela que hay cinco tipos específicos; cada uno requiere su correspondiente antitoxina específica para ser neutralizada. Estos tipos han sido designados A, B, C, D y E (Meyer y Gunnison, 1929). El tipo C se ha subdividido en dos tipos, Cα y Cβ; la antitoxina preparada contra la toxina Cα es específica para la toxina homóloga; la antitoxina contra la toxina Cβ neutraliza ambas toxinas, Cβ y Cα (Pfenninger, 1924).

El tipo A es el microorganismo predominante encontrado en el suelo de Inglaterra, en las Montañas Rocosas y en los Estados de la costa del Pacífico de EE. UU. (Meyer y Dubovsky, 1922). El tipo B ocurre con mayor frecuencia en el centro y en el este de los Estados Unidos y, en menor extensión, en Inglaterra. Las dos variedades del tipo C se encuentran en los Estados Unidos, Sudáfrica y Australia. El tipo D se halla en Sudáfrica y el tipo E en Rusia (Meyer y Gunnison, 1929) y en ocasiones en Estados Unidos (Geiger, 1941; Hazen, 1942).

La cepa original de *Clostridium botulinum* descrita por Van Ermengem no era proteolítica. Sin embargo, los organismos que producen la toxina de tipo A son siempre proteolíticos. La mayor parte de las cepas de tipo B de los Estados Unidos son proteolíticas, mientras que casi todas las de Inglaterra son incapaces de digerir la proteína. Bergey (1948) ha clasificado las cepas proteolíticas como *Clostridium parabotulinum* A o B. La enfermedad se llama *botulismo*, independientemente de si es causada por la toxina de *Cl. botulinum* o de *Cl. parabotulinum*.

Morfología y tinción. El *Clostridium botulinum* es un bacilo *grampositivo* con extremos redondeados, de una longitud de 4 a 6 μ y un grosor de 0,9 a 1,2 μ. Los bacilos se presentan aislados o agrupados en cadenas muy cortas. Las formas de involución son numerosas en los medios artificiales. El bacilo es *ligeramente móvil* y posee de cuatro a ocho flagelos. Las *esporas* se forman con mayor facilidad en gelatina glucosada de pH alcalino; son *ovales* y están *situadas cerca del extremo del bacilo*, rara vez en el centro. Las esporas se forman entre 20° a 25° C.; no suelen producirse a temperaturas más altas.

Caracteres de cultivo. El bacilo es *anaerobio estricto* y se cultiva fácilmente en condiciones anaerobias en los medios corrientes de carne. Se desarrolla con rapidez a *temperaturas alrededor de 25° C.*, y con menos exuberancia a 35° C. o más.

El bacilo es en extremo susceptible a la reacción del medio; sólo se desarrolla en substratos neutros o moderadamente alcalinos.

En *placas de agar*, las colonias son amarillentas, opalescentes y redondas y muestran periferias finamente desflecadas. En *cultivos por picadura* en profundidad en *agar glucosado* al 1 por ciento, el desarrollo se manifiesta al principio como una fina columna blanca que no alcanza a la superficie del medio. Este pronto se resquebraja y se disgrega por la abundante formación de gas.

En *gelatina*, de 20° 25° C., el desarrollo es rápido y abundante y difiere poco del que se produce en agar, excepto en que, además de formarse gas, hay una licuefacción enérgica del medio. En placas de gelatina glucosada, Van Ermengem describió las colonias como redondas, amarillentas, transparentes y compuestas de gránulos groseros que, a lo largo de la periferia, en la zona de licuefacción, presentan movimiento constante. Al aspecto de las colonias superficiales en placas de gelatina glucosada el descubridor le atribuyó valor diagnóstico.

Cuando se cultivan en medio sintético, estos organismos requieren los siguientes aminoácidos: cistina, leucina, lisina, glicina y prolina (Burrows, 1933). Los estudios de Clifton (1940) permiten suponer que los aminoácidos son destruídos por reacciones acopladas de oxidación más bien que por oxidación directa.

Producen *ácido* y *gas* en glucosa, levulosa, maltosa, dextrina, glicerina y salicina (Bengtson, 1922). Los medios de proteína coagulada se ennegrecen y digieren; los microorganismos liquidan la gelatina, peptonizan la leche y producen sulfuro de hidrógeno.

Resistencia. La resistencia al calor de las esporas de los tipos A y B de *Clostridium botulinum* es mayor que la de cualesquiera otros anaerobios. Esty (1923) y Meyer (1922) comprobaron que la termorresistencia de las esporas de 112 cepas de este microorganismo variaba entre 3 y 110 minutos cuando se calentaban a 105° C. en una solución de fosfato a pH 7. Los tiempos máximos de supervivencia de las esporas en esta solución fueron 330 minutos a 100° C., 110 minutos a 105° C., 33 minutos a 110° C., 11 minutos a 115° C. y 4 minutos a 120° C. Las esporas del tipo C son menos resistentes al calor. Según Jordan, "es quizá por esta razón que en los brotes de botulismo en los Estados Unidos —que en su mayor parte son producidos por alimentos conservados al calor— no se ha encontra-

do el tipo C" (Jordan, 1928). Los primeros observadores, y en particular Van Ermengem, indicaron que las esporas eran destruídas a 80° C. Probablemente la carne salada y ahumada de la cual Van Ermengem aisló sus cultivos contenía principalmente organismos de tipo C.

Metabolitos bacterianos. El metabolito importante es una *exotoxina* muy potente. Brieger y Kempner (1897) obtuvieron una toxina de la cual 0,000 001 c.c. podría matar a un cobayo de 250 g en cuatro días. Según Dickson (1918), Van Ermengem en una de las epidemias observó que 200 g del jamón tóxico causaron la muerte de un paciente. También señaló otro caso en el cual una porción de pato en conserva del tamaño de una nuez fué suficiente para causar una enfermedad que duró seis semanas y, en su propia serie, un paciente murió después de haber probado una cucharada pequeña de maíz echado a perder, y otro después de "mordisquear un poco de vaina de judía en mal estado". Un tercero estuvo muy enfermo después de saborear, sin tragarla, una vaina de judía. En los primeros periodos de la intoxicación, puede demostrarse la presencia de exotoxina en la sangre por inoculación al cobayo. Cuando se inyecta intraperitonealmente, 2,5 c. c. de la sangre del paciente pueden contener toxina suficiente para producir la salivación y la parálisis características en 24 a 48 horas (Rosebury y Kabat, 1947).

Las toxinas de *Cl. botulinum* de tipos A y B, han sido aisladas en forma cristalina (Lamanna y Glassman, 1947). Ambas son proteínas simples, pero difieren en su tamaño molecular y en su especificidad. En dosis calculadas por pesos moleculares, la toxina de tipo B tiene solamente un décimo de la potencia de la del tipo A.

Landmann afirmaba que era necesaria una proteína animal para lograr una buena producción de toxina, pero según Dickson (1918) esto no es esencial. Dickson produjo toxina en medios de judías verdes y guisantes y comprobó que, si bien una reacción alcalina es favorable, la reacción ácida no impide la formación de toxina. Según Burke (1919), la toxina se produce tan rápidamente a 37,5° C. como a 28° C. La toxina se destruye aproximadamente a 80° C. Thom, Edmonson y Giltner (1919) sostienen que su toxina fué destruída por calentamiento durante diez minutos a 75° C. La publicación original de Van Ermengem establecía que el calentamiento a 56° C. durante tres horas la inactivaba, lo mismo que el calentamiento a 80° C. durante media hora. Según Dickson, la toxina se destruye rápidamente por exposición a la luz solar y al aire, pero conserva su potencia durante seis meses si se guarda en la obscuridad, como es el caso de los alimentos en conserva. No se afecta por la desecación y es insoluble en alcohol, éter y cloroformo. La sosa normal, al 20 por ciento en volumen, destruye la toxina; cantidades similares de ácido no disminuyen su virulencia en 24 horas (Dickson, 1918).

Durante los estudios sobre guerra bacteriana, entre 1942 y 1944, la toxina cristalina fué producida en cantidad. Es algo desconcertante imaginar los efectos de la introducción de toxina, por aire, en los suministros de alimentos y agua de un enemigo (Rosebury y Kabat, 1947).

Estructura antigénica. Las especies proteolíticas parecen poseer un antígeno O común, pero los diversos tipos de *Cl. botulinum* se pueden subdividir por lo menos en siete grupos según sus antígenos flagelares (Schoenholz y Meyer, 1925; McClung, 1937).

Poder patógeno. *Clostridium botulinum* es en principio un saprófito. Se desarrolla en condiciones anaerobias en productos animales o vegetales en descomposi-

ción, en latas o botes de carne mal esterilizados, en judías, espárragos, aceitunas y otras substancias alimenticias que hayan sido contaminadas con el microorganismo. En tales condiciones y en ausencia de oxígeno, este organismo produce sus potentes toxinas. Estas, al ser ingeridas por un animal o por el hombre, producen la enfermedad conocida como botulismo. Es costumbre decir que el microorganismo no tiene poder invasor y que no elabora toxinas en el cuerpo animal. Sin embargo, Coleman y Meyer (1922) y Starin y Dack (1925) han demostrado que las esporas destoxicadas, inyectadas a un animal, pueden germinar y desarrollarse en los tejidos, produciendo intoxicación mortal. Es muy poco probable que el hombre se infecte de este modo.

Cierto número de enfermedades paralíticas características de aves y mamíferos son ocasionadas por estas toxinas, que los animales ingieren con su alimento. Los ejemplos mejor conocidos son la *enfermedad del pasto o del forraje* de los caballos (Tocher y col., 1923), *enfermedad por hierba ensilada* en el ganado vacuno y *torticolis* en las gallinas (Graham y Schwarze, 1921; Dickson, 1915), la denominada *lamsiekte* del ganado vacuno en EE. UU. (Theiler, 1927; Scheuber, 1929), en Sudáfrica, y la *duck sickness* (Kalmbach, 1930-1932) del mismo país.

La toxina es potente para monos, conejos, cobayos, gatos y diversas aves. Dickson (1918) comprobó que la gallina era muy susceptible y que los perros eran menos resistentes de lo que anteriormente se había pensado. Los animales más sensibles parecen ser los ratones, cobayos y monos. Los conejos, gatos, perros y ratas son relativamente resistentes. La razón de estas diferencias de susceptibilidad no es conocida.

Tipos clínicos de intoxicación en el hombre. El botulismo es característico en sus manifestaciones clínicas y no suele plantear grandes problemas diagnósticos, una vez que se sospecha la enfermedad. Como la toxina está preformada antes de la ingestión, los síntomas no tardan en aparecer después de comer el alimento infectado, generalmente 24 horas o menos. Pueden, sin embargo, manifestarse a los dos o tres días, sin que ello excluya el diagnóstico. Los síntomas más precoces suelen consistir en debilidad y laxitud generales, con fatiga y algo de dolor de cabeza. Es característica la falta de otros síntomas que dirijan la atención hacia el tubo digestivo. El estreñimiento es la regla. Muy pronto pueden presentarse trastornos de la visión, como resultado de la participación de los músculos del globo ocular. Está particularmente afectado el tercer par craneal, con blefaroptosis, midriasis, disminución del reflejo pupilar y diplopia. Puede haber fotofobia. Para una exposición detallada de la sintomatología remitimos el lector a la monografía de Dickson. La participación de los músculos faríngeos puede producir dificultad en la deglución, con incapacidad para masticar, entorpecimiento de la lengua y dificultad de palabra. La apirexia es constante en los primeros períodos; tampoco está alterado el ritmo cardíaco. Los casos mortales suelen acabar en la muerte en 3 a 7 días, por insuficiencia cardíaca o asfixia terminal. Al referirse al diagnóstico diferencial. Dickson menciona particularmente la poliomielitis, la sífilis cerebroespinal, los primeros períodos de la parálisis bulbar, el envenenamiento por belladona y alcohol metílico.

Transmisión. Burke (1923) obtuvo siete cultivos de *Cl. botulinum* de cerezas enmohecidas, hojas manchadas con excremento de insectos, plantas de frijol enano, frijoles enanos estercolados, estiércol de un cerdo y heno enmohecido. Estas investigaciones parecen indicar que *Cl. botulinum* es común en la Naturaleza y puede estar presente en el intestino de los animales domésticos. Posiblemente sea diseminado por insectos y aves.

Los primeros aislamientos los logró Van Ermengem a partir de carne en conserva, demostrando así que la conservación ordinaria en salmuera o salazón no destruye las esporas del botulismo. Las epidemias que han ocurrido están resumidas por Mayer (1913) y por Dickson (1918). Hasta el momento de la publicación de Mayer (1913), se habían observado en Europa 800 casos desde 1882, 200 de los cuales habían sido mortales. De 64 casos recogidos por Dickson en Estados Unidos para un período de 25 años, 54 ocurrieron en California. Ophuls y Wilburg publicaron una epidemia en 1914 debida al consumo de judías enlatadas. En la publicación *U. S. Public Health Bulletin 127* (1922), Geiger, Dickson y Meyer han estudiado 91 comunicaciones sobre este tema. En ellas había datos de 51 epidemias originadas por conservas de preparación casera, incluyendo vegetales, queso, pescado, salsas, cerdo, vaca y pollo y 31 epidemias atribuíbles a productos enlatados del comercio. En esta publicación se sugiere que ciertas formas de intoxicación por forraje, especialmente en caballos, son casos de botulismo equino. Según estos autores, el bacilo puede estar presente en ciertas localidades como huésped del intestino del ganado vacuno, y que el botulismo en cerdos, perros, gatos y cabras, aunque muy raro, ha sido observado después que ingirieron vegetales de conservación casera. Geiger, en una publicación aparecida en 1924 *(U. S. Public Health Bulletin Reprint 911)*, añade que los hallazgos positivos en los cultivos de tierra de jardín son la regla en los Estados del Oeste y que se obtuvieron cultivos positivos de las deyecciones de pacientes curados. Cree que muchas tierras contienen ambos tipos, A y B, de *Cl. botulinum;* predominaba el tipo B lo mismo en las tierras de jardín que en las vírgenes en una zona estudiada. Esta es probablemente la fuente de infección de los vegetales utilizados para conserva.

Armstrong estudió cuidadosamente una epidemia en 1919 originada por aceitunas maduras. No podemos referirnos con la amplitud que merece a la extensa literatura sobre botulismo que se ha producido durante los últimos años, a raíz de los estudios de Dickson, Meyer y otros. La mortalidad ha sido alta, en especial en Estados Unidos, donde ha pasado del 64 por ciento.

Tratamiento. Pueden producirse antitoxinas potentes por inyección de animales susceptibles con toxina. Kempner, en 1897, fué el primero en experimentar extensamente y produjo antitoxina en cabras usando la cepa de Van Ermengem. La inmunización de pequeños animales de laboratorio es relativamente difícil, a menos que se empleen dosis mínimas y toxinas atenuadas. Los estudios principales sobre estos aspectos del problema han sido hechos por Forssman y Lunstrom (1902) y por Leuchs (1910). Más recientemente, Dickson y Howitt (1919) han producido potentes antitoxinas en cabras, si bien sus productos no eran tan poderosos como los de Kempner y otros observadores. En sus experimentos obtuvieron una antitoxina contra una serie de cepas que no tenía efecto apreciable sobre las toxinas de otras tres cepas. Esto pone de manifiesto la gran importancia de producir sueros curativos con toxinas A, B y C, de los tres tipos más comunes en Estados Unidos y, en algunos casos, contra los cinco tipos.

Dickson aconseja que la antitoxina sea inyectada intravenosamente y señala que la técnica debe ser como sigue: se observarán las precauciones usuales para la administración de suero de caballo y se probará la sensibilidad del paciente. Si no existe hipersensibilidad, el suéro debe ser inyectado inmediatamente en una vena a una velocidad no mayor de 1 c. c. por minuto. Deben administrarse dosis relativamente grandes ya que la cantidad de toxina ingerida puede haber sido también muy grande.

Prevención. Las medidas preventivas se deducen de los hechos citados en los párrafos anteriores, según las cuales, en primer lugar, todas las personas que tienen la costumbre de preparar alimentos en conserva deben evitar de la manera más cuidadosa las posibilidades de contaminación y saber que las esporas de *Cl. botulinum* pueden encontrarse en frutas, vegetales y otras materias antes que sean envasadas. Debe tenerse bien presente que los alimentos pueden estar contaminados con *Cl. botulinum*, sin que presenten alteración alguna macroscópica, y que el ligero olor a rancio que algunas veces indica su presencia, puede muy bien no ser perceptible. La esterilización de alimentos enlatados, salsas, carnes en conserva, etcétera, debe ser atendida cuidadosamente y ninguna de las preparaciones caseras debe ser consumida, a menos que se cueza antes de comerla (Meyer, 1936).

DIFERENCIACION DE LOS CLOSTRIDIOS MAS IMPORTANTES

En la edición de 1948 del *Manual* de Bergey se describen unas 61 especies de *Clostridia*. Sólo nos hemos referido aquí a algunas de las más importantes. Un método rápido para la identificación de *Clostridia* patógenos por medio de la inoculación animal se ha expuesto en el capítulo precedente. La diferenciación por los caracteres de cultivo es algo laboriosa, aunque la facilitan los excelentes esquemas de Spray (1936) y Reed y Orr (1941).

Se siembran en profundidad con el material original tubos que contienen medio de carne o cerebro. Cuando se descubren esporas, el cultivo se calienta a 80° C. durante 10 minutos para destruir los contaminantes no esporulados. Se obtienen colonias aisladas por medio de cultivos agitados * o, de preferencia, por estrías en placas de agar-sangre que después se incuban en un recipiente para anaerobiosis o en placa de Spray.

Spray (1936) dividió estos gérmenes portadores de esporas en varios grupos principales por su acción en *leche-hierro*. Este medio se prepara añadiendo a leche fresca, en tubos profundos, una pieza de hierro de 50 por 7 mm, después de lo cual los tubos se esterilizan. En la tabla adjunta se presenta, en forma modificada, la clave de Spray para la identificación.

Clave simplificada para anaerobios esporulados

I. Leche-hierro: Fermentación gaseosa activa; coagulación precoz, pero ni digestión ni ennegrecimiento.
  A. Acetato de plomo: Negro.
    1. Sacarosa +. Esporas ovoides, centrales, no distienden los bacilos; inmóviles.
       .... 1. *Clostridium perfringens.*
    2. Sacarosa —. Esporas ovoides, subterminales, que distienden los bacilos; móviles.
       .... 2. *Clostridium aerofoetidum.*
  B. Acetato de plomo: No hay obscurecimiento.
    Sacarosa +. Esporas ovoides, no distienden los bacilos; móviles.
      a. Glicerina +
       .... 3. *Clostridium multifermentans.*
      b. Glicerina —
       .... 4. *Clostridium butyricum* (Grupo).

II. Leche-hierro: Fermentación gaseosa inactiva; coagulación tardía; ni digestión ni ennegrecimiento.
  A. Acetato de plomo: Negro.
    1. Indol ±. Esporas abundantes, esféricas, subterminales llegando a ser terminales, abultando los bacilos; células vegetativas naviculares con extremos puntiagudos.
       .... 5. *Clostridium sphenoides.*

* El material que se siembra se mezcla por agitación en el medio de cultivo fundido y se vierte en placa, donde se solidifica y se pueden obtener colonias separadas. Después de fundir los tubos se dejan enfriar a 40°-45° C. para hacer la mezcla con el material problema por agitación rotatoria de los tubos; después, éstos se vierten en placas de Petri, donde se distribuye el medio de cultivo mezclado con el material sembrado por movimientos rotatorios sobre la mesa. (N. del T.)

2. Indol —. Esporas ovoides, no abundantes, subterminales, abultando los bacilos; células vegetativas finas, con extremos redondos o puntiagudos.
.... 6. *Clostridium fallax.*

B. Acetato de plomo: Ligero obscurecimiento.
Gelatina —; sacarosa +; salicina +; esporas ovoides, terminales, abultando el bacilo; desarrollo aerobio (microaerófilo).
.... 7. *Clostridium tertium.*

C. Acetato de plomo: No cambia.
Gelatina +; sacarosa —; salicina +; esporas ovoides, subterminales, abultando el bacilo.
.... 8. *Clostridium septicum.*

III. Leche-hierro: Fermentación gaseosa inactiva (continuada mucho tiempo); coagulación *muy tardía, si la hay;* sin ennegrecimiento.

A. Acetato de plomo: Negro.

1. Lactosa —; nitrito —; glucosa +; sacarosa —; salicina —; esporas ovoides, no abundantes, subterminales, abultando el bacilo.
.... 9. *Clostridium novyi.*

2. Lactosa +; nitrito +; glucosa +; sacarosa +; salicina —; esporas ovoides, abundantes, subterminales, abultando el bacilo.
.... 10. *Clostridium feseri.*

B. Acetato de plomo: No hay obscurecimiento.
Nitrito —; lactosa —; glucosa +; sacarosa —; salicina —; esporas ovoides, no abundantes, terminales, abultando ligeramente el bacilo.
.... 11. *Clostridium botulinum C.*

IV. Leche-hierro: Fermentación gaseosa inactiva; ennegrecimiento precoz (48 horas) o tardío (8 a 9 días); digestión *con* o *sin* coagulación previa.

A. Acetato de plomo: Ennegrecimiento rápido.

1. Leche-hierro: coágulo blando en 2 a 5 días: ennegrecimiento *precoz;* digestión lenta; esporas ovoides, no abundantes, subterminales, abultando el bacilo; fermentan la salicina indol —; diferenciados por toxina-antitoxina.
.... 12. *Clostridium parabotulinum A* y *B.*

2. Leche-hierro no coagulada; ennegrecimiento rápido; digestión rápida; esporas ovoides, subterminales, abultando el bacilo; no fermentan la salicina.

a. Indol —.

1) No se observan cristales de tirosina.
.... 13. *Clostridium esporogenes.*

2) Cristales de tirosina en los cultivos viejos.
.... 14. *Clostridium tyrosinogenes.*

b. Indol +; glucosa +; lactosa —; sacarosa —; esporas ovoides, centrales, poco abultamiento del bacilo.
.... 15. *Clostridium bifermentans.*

B. Acetato de plomo: No hay obscurecimiento.
Glucosa —; lactosa —; sacarosa —; salicina —; gelatina +; color rojo vinoso en gelatina-hierro (24 a 48 horas); crece aeróbicamente (microaerófilo); esporas ovoides, subterminales, abultando el bacilo.
.... 16. *Clostridium histolyticum.*

V. Leche-hierro: No hay fermentación gaseosa; no hay obscurecimiento; coagulación negativa o tardía.

A. Acetato de plomo: Moreno ahumado a las 24 ó 48 horas.
Glucosa —; lactosa —; sacarosa —; salicina —; gelatina —; esporas no abundantes, esféricas, terminales, abultando el bacilo.

1. Tóxico.
.... 17. *Clostridium tetani.*

2. No tóxico.
.... 18. *Clostridium lentoputrescens.*

B. Acetato de plomo: No cambia.
Glucosa +; lactosa —; sacarosa —; salicina —; gelatina —; esporas esféricas hasta ovoides, terminales, abultando el bacilo.
.... 19. *Clostridium tetanomorphum.*

Para una mayor información sobre las características de cultivo de este grupo de organismos, el estudiante deberá consultar el artículo del Prof. R. S. Spray, publicado en *Journal of Bacteriology*, 1936, volumen 32, página 135, y también su revisión en la sexta edición del libro *Manual of Determinative Bacteriology*, de Bergey, 1948.

BIBLIOGRAFIA

ARMSTRONG. *U. S. Pub. Health Rep.*, Dec., 1919, 54.
BENGTSON, I. A. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1922, 37:164.
BRIEGER and KEMPNER. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1897, 23:521.
BURKE, G. S. *J. Bacteriol.*, 1919, 4:541, 555.
——— *J. Infect. Dis.*, 1923, 32:433.
BURROWS, W. *J. Infect. Dis.*, 1933, 52:126.
CLIFTON, C. E. *J. Bacteriol.*, 1940, 39:485.
COLEMAN, G. E., and MEYER, K. F. *J. Infect. Dis.*, 1922, 31:662.
DICKSON, E. C. *J.A.M.A.*, 1915, 65:492.
——— Monogr. Rockefeller Inst. M. Research, July 31, 1918, No. 8.
——— and SKEVKY, E. *J. Exper. M.*, 1923, 38:327.
——— and HOWITT. *J.A.M.A.*, 1919, 74:718.
ESTY, J. R. *Am. J. Pub. Health*, 1923, 13:108.
——— and MEYER, K. F. *J. Infect. Dis.*, 1922, 31:650.
FORSSMAN and LUNSTROM. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1902, 16:294.
GEIGER, J. C. *J.A.M.A.*, 1941, 117:22.
GRAHAM, R., and SCHWARZE, H. *J. Bacteriol.*, 1921, 6:69.
HAINES, R. B. *J. Hyg.*, 1942, 42:323.
HAZEN, E. L. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1942, 50:112.
JORDON, E. O. *The Newer Knowledge of Bacteriology and Immunology*, Chicago, 1928.
KALMBACH, E. R. *Science*, 1930, 72:658; 1932, 75:57.
KEMPNER. *Ztschr. f. Hyg.*, 1897, 26:481.
——— and POLLACK. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1897, 23:505.
LAMANNA, C., and GLASSMAN, H. N. *J. Bacteriol.*, 1947, 54:575.
LEUCHS. In Kolle and Wassermann, *Handb.*, etc., 2nd ed., Vol. IV, p. 932.
——— *Ztschr. f. Hyg.*, 1910, 65:55.
McCLUNG, L. S. *J. Infect. Dis.*, 1937, 60:122.
MAYER. *Deutsche Vrtljschr. f. öff. Gsndhtspflg.*, 1913, 35:8.
MEYER, K. F., y col. *J. Infect. Dis.*, 1922, 31:501, 541, 556.
——— and GUNNISON, J. B. *J. Infect. Dis.*, 1929, 45, 106, 119.
——— and DUBOVSKY, B. J. *J. Infect. Dis.*, 1922, 31:559.
——— *Calif. & West. Med.*, 1936, 44:385.
OPHÜLS and WILBUR. *Arch. Int. Med.*, 1914, 14:589.
PFENNINGER, W. *J. Infect. Dis.*, 1924, 35:347.
REED, G. B., and ORR, J. H. *War Med.*, 1941, 1:493.
ROSEBURY, T., and KABAT, E. A. *J. Immunol.* 1947, 56:7.
SCHEUBER, J. R. 15th Rep., Vet. Res. South Africa, 1929.
SCHOENHOLZ, P., and MEYER, K. F. *J. Immunol.*, 1925, 10:1.
SPRAY, R. S. *J. Bacteriol.*, 1936, 32:135.
STARIN, W. A., and DACK, G. M. *J. Infect. Dis.*, 1925, 36:383.
THEILER, A., y col. 11th and 12th Reps., *Vet. Res. South Africa*, 1927.
THOM, EDMONSON and GILTNER. *J.A.M.A.*, 1919, 73:901.
TOCHER, J. F., TOCHER, J. W., BROWN, W., and BUXTON, J. B. *Vet. Rec.*, 1923, 3:37. Tomado de R. T. Hewlett, *A System of Bacteriology in Relation to Medicine*, London, 1929, 3:373.
VAN ERMENGEM. *Centralbl. f. Bakteriol.*, 1896, 19:443.
——— *Ztschr. f. Hyg.*, 1897, 26.
——— Tomado de Kolle y Wassermann, *Handb.*, etc., 2nd ed.

CAPITULO XLIV

BACTERIAS DIVERSAS DE IMPORTANCIA MEDICA

Además de los organismos descritos en los capítulos precedentes, hay otras muchas bacterias que son importantes en Medicina. Algunas de ellas no son patógenas pero influyen en el estado de salud de los seres humanos; algunas son de poder patógeno dudoso y otras son realmente patógenas pero se encuentran rara vez. Como no podemos destinar un capítulo a cada uno de estos organismos sólo presentamos unas notas breves sobre un grupo diverso de tales bacterias.

LISTERIA MONOCYTOGENES Y LISTERELLOSIS

Familia: *Corynebacteriaceae* Lehmann y Neumann. Género: *Listeria* Pirie. Especie tipo: *Listeria monocytogenes* (Murray y col.) Pirie

Murray, Webb y Swann aislaron en 1926 *Listeria monocytogenes* de conejos que sufrían una enfermedad espontánea caracterizada por aumento del número de leucocitos mononucleares en sangre circulante. Se han cultivado cepas, relacionadas antigénicamente, a partir de conejos, cobayos, ovejas, zorros, cerdos, jerbos, aves de corral, ganado vacuno y hombres (Robbins y Griffin, 1945).

El organismo es un bacilo pequeño, *grampositivo, no capsulado, no esporulado*, de 0,4 a 0,5 μ por 0,2 a 2 μ, con extremos redondeados y un cuerpo recto o ligeramente curvado. Cuando se desarrolla a la temperatura de la habitación, el organismo es *móvil* y tiene cuatro flagelos, pero si se cultiva a 37° C. es perezosamente móvil o inmóvil y sólo puede reconocerse un flagelo (Griffin y Robbins, 1944). Es *aerobio* pero también *anaerobio facultativo* y se desarrolla mejor a 37° C. en medios enriquecidos con extracto de hígado o sangre.

En agar semisólido con glucosa aparece a lo largo de la línea de la picadura un desarrollo de tipo granular (Seastone, 1935). En agar-extracto de hígado de carnero las colonias son pequeñas, circulares, lisas, viscosas y aplanadas. Aparecen transparentes con luz transmitida y blancolechosas a la luz reflejada. La zona de *hemólisis* que aparece alrededor de las colonias desarrolladas sobre agar-sangre recuerda la de una colonia de estreptococo hemolítico.

Produce rápidamente *ácido sin gas* en *glucosa, ramnosa* y *salicina*. No hace fermentar la arabinosa, galactosa, xiloxa, manita, dulcita, inulina ni inosita. La fermentación de la maltosa y de la lactosa es variable y lenta. Los cultivos tienen un olor ácido penetrante y desagradable. Estos organismos se destruyen en diez minutos a 50° C. Las *sulfonamidas* curan las infecciones experimentales de los animales pero la *penicilina* es menos eficaz (Porter y Hale, 1939; Harvey y col., 1945; Handelman y col., 1946; Barber y col., 1946).

Patterson (1940) estudió 54 cepas aisladas de diversos animales y del hombre y encontró cuatro tipos con tres antígenos H y tres antígenos O. Robbins y Griffin (1945) han designado los antígenos somáticos O como I, II, III, IV y V y los antígenos flagelares H como a, b, c y d. Ocurren aglutinaciones cruzadas como resultado de antígenos H comunes. Aparecen espontáneamente colonias de organismos inmóviles sin antígenos H. No hay relación entre tipos antigénicos, especificidad de huésped o distribución geográfica.

La enfermedad espontánea en los animales se caracteriza por la producción de múltiples focos necróticos pequeños en los órganos internos y un aumento considerable del número de células mononucleares de la sangre. Estos microorganismos con frecuencia producen en forma característica una forma gravísima de meningitis.

En el hombre, la forma septicémica de la enfermedad es rara, pero la meningitis no lo es. La mortalidad total es de 70 por ciento (Burn, 1935; Poston y col., 1937; Julianelle, 1940; Handelman y col., 1946).

Se conoce un caso de meningitis por *Listeria* que curó después de un tratamiento intenso con sulfadiacina y penicilina, pero el restablecimiento se atribuyó a la acción de la primera droga (Handelman y col., 1946). La estreptomicina cura la infección en los pavos (Grey, 1947), pero no sabemos de su uso en el hombre.

Relación con la mononucleosis infecciosa del hombre. Esta enfermedad se conoce también como *linfoblastosis benigna aguda* y *fiebre glandular* (Pfeiffer, 1889; Sprunt y Evans, 1920; Longcope, 1922; Webb, 1943). Se caracteriza por ser enfermedad de los niños y adultos jóvenes; con frecuencia adopta forma epidémica. Como en la listerelosis, hay aumento de las células mononucleares de la sangre y se encuentra en el suero un *anticuerpo heterófilo* que aglutina los glóbulos rojos normales de carnero. Esta reacción de aglutinación, conocida como reacción de *Paul-Bunnell*, suele tener valor diagnóstico, aunque no específico (Smeall, 1942). En algunos casos *L. monocytogenes* ha sido aislado de pacientes con mononucleosis infecciosa, pero es poco probable que sea una causa común de la enfermedad (Webb, 1943).

ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE Y ERISIPELOIDE

Familia: *Corynebacteriaceae* Lehmann y Neumann. Género: *Erysipelothrix* Rosenbach.
Especie tipo: *Erysipelothrix rhusiopathiae* (Migula) Winslow y col.

Erysipelothrix rhusiopathiae fué aislado por Koch en 1880 de ratones que habían sido inyectados con sangre en putrefacción. En 1882, Löffler (1886) cultivó este organismo de los vasos sanguíneos de la piel de un cerdo que había muerto de erisipela porcina. Cuatro meses antes, Pasteur y Thuillier (1883) obtuvieron el mismo organismo de cerdos que morían de *rouget* (mal colorado). Finalmente, Rosenbach (1909) lo aisló de la infección *erisipeloide* en el hombre.

Este organismo está ampliamente distribuido en la Naturaleza, encontrándose en la baba de la piel de los peces tanto de agua dulce como de agua salada. Produce una enfermedad común de los cerdos conocida como erisipela porcina y, con menor frecuencia, ha sido encontrado en la poliartritis de las ovejas, enfermedades articulares en los corderos e infecciones de caballos, ganado vacuno, pavos y pavos reales (Rosenwald y Dickinson, 1941).

El hombre adquiere la infección por contacto con peces, animales infectados o productos animales como carne, cueros, huesos y abonos animales (Klauder, 1938). Se ha registrado una epidemia en una fábrica de botones donde se trabajaba con huesos infectados de cerdo y de vaca (McGinnes y Spindle, 1934).

El microorganismo es un bacilo *no esporulado, no capsulado, inmóvil, grampositivo*, que mide 0,2 a 0,3 μ de ancho y 0,5 a 1,5 μ de largo. Se presenta lo mismo aislado que en cadena. La forma R es larga y filamentosa y con frecuencia presenta tantas ramificaciones que ha llegado a ser clasificada entre los actinomycetos.

Recién aislado es *microaerófilo* y se desarrolla mejor a pocos milímetros por debajo de la superficie de un tubo de agar semisólido. La temperatura óptima se encuentra entre 30° y 37° C. con límites de 15° y 44° C. En *placas de agar-sangre*, las colonias forma S son diminutas (0,1 mm), redondas, convexas, amorfas, en gota de rocío y brillantes. Las colonias son blandas y se emulsionan con facilidad. La forma R es algo mayor (0,2 a 0,4 mm) y semeja colonias en miniatura de *Bacillus anthracis* con filamentos rizados y bordes recortados. En medios inclinados de gelatina la forma S permanece confinada a la línea de la siembra, pero la forma R se extiende para formar una nube difusa o ramas definidas que semejan las cerdas de una escobilla para tubos de ensayo. Alrededor de las colonias desarrolladas en agar con 10 por ciento de sangre de caballo se produce una zona *hemolítica*.

Las fermentaciones de los azúcares son irregulares, pero suele formar *ácido sin gas* en *glucosa* y *lactosa* pero no en maltosa, manosa, ramnosa, manita, sacarosa, dextrina y salicina.

Los organismos mueren en 15 minutos a 55° C., pero son muy resistentes en las carnes, donde sobreviven de uno a tres meses después de salazón, adobo o ahumado. No son destruídos por la putrefacción sino que viven durante meses en los cadáveres enterrados y en los huesos de animales muertos de infección general.

Watts (1940) estudió 43 cepas aisladas de diversos orígenes y encontró que 38 pertenecían a un tipo antigénico y 5 a otro. Además del antígeno termoestable específico, hay dos antígenos termolábiles que se hallan en proporciones diferentes en los dos tipos y que explican las existencia de reacciones cruzadas. En la sangre del hombre y de los animales aparecen aglutininas durante la convalecencia; en caballos se ha producido un *suero antibacteriano* que se usa para tratamiento tanto del hombre como de los animales.

En cerdos con inyecciones espontáneas se presentan diversos síntomas clínicos. Algunos animales mueren en dos a cuatro días con *septicemia aguda;* más comúnmente aparecen en la piel manchas romboides purpúreas conocidas en EE. UU. como *diamonds (ladrillos);* con menor frecuencia se desarrolla una infección de forma crónica con *artritis* local o *endocarditis.*

Los ratones, palomas y conejos se infectan fácilmente con cultivos recién aislados. Los cobayos son resistentes y se pueden usar para diferenciar *Erysipelothrix rhusopathiae* de *Listeria monocytogenes.* Como en las infecciones por *L. monocytogenes,* los conejos inoculados con dosis subletales de este microorganismo presentan aumento del número de monocitos circulantes.

En ocasiones se observa en el hombre una *septicemia* rápidamente mortal, a veces con *endocarditis* (Klauder, 1938). El tipo de infección más frecuente es subagudo y aparece en los dedos o en las manos. Las lesiones cutáneas son rojas y edematosas; con frecuencia presentan vesículas superficiales llenas de líquido ligeramente turbio. Los ganglios linfáticos regionales están aumentados; a veces hay artritis asociadas.

La curación espontánea requiere unos 30 días, pero el curso de la enfermedad puede ser substancialmente acortado por la administración de *sulfonamidas o penicilina.*

Ehrlich (1946) ha publicado el restablecimiento de un paciente que tenía extensas lesiones cutáneas flictenosas por el cuerpo y se encontraba gravemente enfermo, antes de administrarle penicilina. En el artículo de Ehrlich se muestra una excelente fotografía kodachrome de las lesiones del paciente.

En el cerdo, la inmunización pasiva, con suero inmune, brinda protección por unas dos semanas. Pasteur y Thuillier (1883) atenuaron el organismo por pasos en conejos y después emplearon el cultivo vivo como *vacuna.* Más tarde usaron para la inmunización activa cultivos virulentos vivos mezclados con antisuero. Por ambos métodos se obtiene una buena inmunización que dura de 8 a 12 meses, pero, por desgracia, los organismos vivos de la vacuna a veces producen lesiones locales que sirven de focos para diseminación de la enfermedad.

BACILOS ANAEROBIOS NO ESPORULADOS

Necrobacilosis, Bacteroidosis

En las lesiones necróticas del hombre y de los animales se encuentra cierto número de bacilos *anaerobios* o *microaerófilos.* Algunos se presentan aislados en los tejidos, pero en la mayor parte de los casos van acompañados de una variedad de bacilos y cocos. La naturaleza necrótica de las lesiones y el olor fétido pueden sugerir el diagnóstico clínico equivocado de infección por anaerobios esporulados.

El primer organismo conocido de este tipo fué aislado por Löffler (1884) de la difteria de los terneros y denominado *B. necrophorus.* Este bacilo ha tenido muchos nombres: bacilo de Schmorl, *B. diphtheriae vitulorum, Streptothrix caniculi, Actinomyces necrophorus,* bacilo de la necrosis de Bang, *B. funduliformis* y *Bacteroides funduliformis* por Jordan y Burrows (1945). Está catalogado como *Spherophorus necrophorus* (Flügge) Prévot en el manual de Bergey (1948).

En 1896, Vincent describió un bacilo fusiforme asociado con espiroquetas en lesiones gangrenosas de la garganta y otros tejidos (véase pág. 607). El nombre fusiforme es un término descriptivo tan excelente que han sido muy pocos los intentos para modificar la nomenclatura. Ha sido llamado *Fusiformis fusiformis* (Topley y Wilson), *Bacterium fusiformis* (Jordan y Burrows) y *Fusobacterium plauti-vincenti* Knorr (Bergey).

Un tercer grupo de anaerobios no esporulados fué encontrado por Veillon y Zuber, en 1898, en pacientes con apéndices gangrenosos. Fueron denominados *B. ramosus, B. serpens, B. fragilis, B. furcosis* y *B. fusiformis.* El último nombre es evidentemente sinónimo de *Fusobacterium plauti-vincenti.* Topley y Wilson reúnen todas estas especies bajo el nombre genérico de *Fusi-*

formis; Jordan y Burrows bajo el género *Bacterium;* y en el manual de Bergey están clasificadas en el grupo *Bacteroides.*

La adición más reciente a este grupo de anaerobios no esporulados es un organismo aislado por Oliver y Wherry en 1921. Cuando se desarrolla en agar-sangre sintetiza un pigmento melánico que da a la colonia color negro carbón. Este bacilo ha sido llamado *Ristella melaninogenica* y *Hemophilus melaninogenicum.* Topley y Wilson lo incluyen en el género *Fusiformis;* Jordan y Burrows en el género *Bacterium.* En la edición de 1948 del manual de Bergey está catalogado como *Bacteroides melaninogenicus* (Oliver y Wherry) Roy y Kelly.

Familia: *Parvobacteriaceae* Rahn. Grupo: *Bacteroideae* Trib. Nov. Género: *Spherophorus* Prévot. Especie: *Spherophorus necrophorus* (Flügge) Prévot

Los microorganismos de este tipo se encuentran como habitantes normales de la boca, vagina e intestino del hombre y de diversos animales. En el intestino del hombre pueden ser más numerosos que *E. coli* (Lewis y Rettger, 1940).

Spherophorus necrophorus (especie *Bacteroides*) es un bacilo *no esporulado, no capsulado, inmóvil, gramnegativo,* que mide 0,5 a 1,5 μ de anchura. Los bacilos son muy pleomórficos; varían desde pocas micras hasta largos filamentos de 80 a 100 micras de longitud. El organismo es *anaerobio* estricto; se desarrolla mejor a 37° C. Los cultivos primarios se pueden obtener sembrando en *caldo-tioglicolato* de Brewer (1940) o en profundidad en tubos con medios de carne, cerrados herméticamente con parafina. La adición al medio de 30% de líquido de acitis acelera la multiplicación y permite obtener un buen desarrollo en 24 a 48 horas (Smith y Ropes, 1945). Se producen grandes cantidades de gas mal oliente. Se pueden obtener cultivos puros por siembra en líquido de acitis o en placas de agar-sangre en incubación en condiciones anaerobias. Después de una incubación de 48 horas en placas de agar-ascitis las colonias alcanzan un diámetro medio de 1 mm, pero son algo menores en agar-sangre. Las colonias son lisas, convexas, de bordes continuos y color blanco, gris o amarillo. Muchas cepas tienen una forma complicada de multiplicación, con producción de formas del tipo pleuroneumonía (Dienes y Smith, 1944).

Bacteroides fragilis y especies afines no son pleomórficos. Se pueden cultivar por los mismos métodos pero suelen producir menos gas. William Smith y Ropes (1945) comprobaron que las septicemias producidas por las especies no pleomórficas eran menos graves que las causadas por las cepas pleomórficas.

Los organismos de este grupo mueren rápidamente en 20 minutos a 60° C. Las *sulfonamidas* son moderadamente eficaces tanto en las infecciones experimentales como en las clínicas.

El producto metabólico más importante es una *endotoxina necrosante* (Beveridge, 1934).

El estudio de la estructura antigénica de estos organismos está lejos de ser completo. Muchas especies son heterólogas (Dack, 1940), pero las 73 cepas estudiadas en el laboratorio de Rettger pueden incluirse en cuatro grupos serológicos (Weiss y Rettger, 1937: Lewis y Rettger, 1940).

Ocurren infecciones espontáneas en conejos, vacunos, ovejas, caballos y mulos. En los animales estos microorganismos inician tipos de infecciones específicas como el gabarro y las conocidas en EE. UU. como "difteria de los terneros", *grease heel.* No son raras las lesiones necrosantes de la piel y los abscesos metastáticos de articulaciones, hígado, pulmones y cerebro.

Se pueden producir abscesos subcutáneos en conejos, cobayos y ratones jóvenes. Los conejos inyectados intravenosamente con el microorganismo pueden desarrollar múltiples abscesos metastáticos o morir de caquexia sin lesiones aparentes.

La *necrobacilosis* o *bacteroidosis* es una infección del hombre probablemente menos rara de lo que podría deducirse al revisar la literatura (Dack, 1940). Empleando métodos anaerobios de cultivo en todos los pacientes sospechosos de tener una infección de este tipo, Smith y Ropes descubrieron que en un período de cuatro años ocurrieron 20 casos de esta enfermedad en un hospital. Casi todas las partes del cuerpo, como los oídos, amígdalas, vagina, útero, pulmones, hígado, articulaciones, peritoneo, cerebro y meninges pueden infectarse. La septicemia no es rara (Buhler y col., 1942; Smith y Ropes, 1945) y han sido aislados organismos pertenecien-

tes a este grupo de casos de septicemia puerperal (Harris y Brown, 1927) y de colitis ulcerosa (Dack, 1940).

El drenaje quirúrgico y la terapéutica con sulfonamidas facilitan considerablemente el restablecimiento. Aunque casi todos los casos de meningitis publicados primeramente fueron mortales, cuatro de los cinco pacientes en la serie de Smith y Ropes se recuperaron después del drenaje quirúrgico precoz, punciones lumbares repetidas y administración intravenosa de líquidos y sangre como suplemento a la terapéutica por sulfadiacina.

Grupo: *Bacteroideae* Trib. Nov. Género: *Fusobacterium* Knorr. Especie: *Fusobacterium plauti-vincenti* Knorr

Fusobacterium plauti-vincenti es un bacilo *no esporulado, no capsulado, inmóvil, gramnegativo*, que mide 0,5 a 1 µ de anchura y 8 a 16 µ de longitud. Los extremos están afilados. Con frecuencia los organismos se encuentran en pares, extremo a extremo, y en casi toda preparación se pueden ver diversos estados de división transversal (fig. 126). Si bien este organismo es gramnegativo, frecuentemente se ven en las formas mayores gránulos y bandas grampositivos. El bacilo es *anaerobio* y desarrolla mejor entre 35° y 37° C. a pH que varía de 6,8 a 8,0. Crece bien en caldo suero o caldo-ascitis, en simbiosis con cocos y otros bacilos, pero es difícil de aislar y mantener en cultivo puro. En placas de agar-ascitis o de agar-sangre incubadas en condiciones anaerobias durante 48 a 72 horas, aparecen pequeñas colonias blancogrisáceas. Esta especie no forma gas ni produce olor, si bien *Fusobacterium nucleatum* de Knorr desprende olor acre desagradable. En glucosa, levulosa y sacarosa forma *ácido sin gas* pero la fermentación de la lactosa es variable (Hine y Berry, 1937).

Weiss y Mercado (1938) extrajeron substancias especificadas de tipo, de naturaleza proteínica, de este grupo de organismos y demostraron la existencia de un polisacárido específico de grupo. Se ha hecho algún progreso en la clasificación antigénica de los bacilos fusiformes por Varney (1927), Pesch y Schmitz (1936), Spaulding y Rettger (1937), Hine y Berry (1937), Weiss y Mercado (1938) y Kelly (1944).

Coincidimos con Tunnicliff y Hammond (1937) en que el bacilo fusiforme, móvil, grande que se encuentra regularmente en las lesiones de la angina de Vincent y en la boca de trinchera es una forma de *Bor. buccale* (Smith, 1932). Los bacilos fusiformes pequeños son inmóviles, no son destruídos por los arsenicales ni tienen relación genérica con las espiroquetas. Sin embargo, son compañeros de simbiosis en la enfermedad fusoespirilar. En veinte años de observación nunca hemos visto una infección clínica en la cual los bacilos fusiformes fueran los únicos organismos presentes. Los animales no han sido infectados con cultivos puros. Mayores detalles acerca de la patogenia de la simbiosis fusoespirilar se encuentran en la página 610.

Grupo: *Bacteroideae* Trib. Nov. Género: *Bacteroides* Castellani y Chalmers. Especie: *Bacteroides fragilis* (Veillon y Zuber) Castellani y Chalmers. *Bacteroides melaninogenicus* (Oliver y Wherry) Roy y Kelly

Bacteroides melaninogenicus es un bacilo *gramnegativo, no esporulado, no capsulado, inmóvil* que mide 0,8 µ de anchura y 1 a 3 µ de longitud. Se desarrolla fácilmente en la superficie de placas de agar-ascitis o de agar-sangre en simbiosis con otros organismos pero es difícil de aislar y mantener en cultivo puro. Cuando el organismo se desarrolla en agar-sangre produce un pigmento melánico que después de cuatro a cinco días da a la colonia color negro característico. Desgraciadamente, estos organismos suelen morir antes que el color diagnóstico esté bien desarrollado, lo cual, en parte, explica las dificultades encontradas en obtener y perpetuar los cultivos puros. Oliver y Wherry (1921) aislaron este organismo de la boca, heces y orina y de algunas heridas infectadas. Según Weiss (1943) se encuentra casi constantemente en el esputo en casos de absceso pulmonar de tipo fusoespirilar. No hemos tenido dificultad en confirmar las observaciones de Weiss.

Burdon (1928) aisló estos organismos de la sangre de varios casos de septicemia puerperal. En cultivo puro no es esencialmente patógeno y no produce la muerte de ratones o conejos.

aunque origina necrosis y edema inflamatorio local cuando se inyecta intracutáneamente a conejos (Weiss, 1943).

FIEBRE DE HAVERHILL Y FIEBRE POR MORDEDURA DE RATA

Familia: *Parvobacteriaceae* Rahn. Grupo: *Hemophileae* Winslow y col. Género: *Hemophilus* Winslow y col. Especie: *Streptobacillus moniliformis* Levaditi y col.

Este bacilo pleomórfico gramnegativo ha sido descrito con diversos nombres: *Haverhillia multiformis, Streptothrix ratti, Actinomyces muris, Asterococcus muris* y *Actinomyces muris ratti*. En el manual de Bergey (1948) este organismo se halla en el apéndice a la descripción del género *Hemophilus*, pero se le designa *Streptobacillus* a despecho de la afirmación de Buchanan que no admite dicho género *Streptobacillus*.

Streptobacillus moniliformis se encuentra normalmente en la boca de ratas silvestres y puede ser introducido en los tejidos del hombre por mordedura (Schottmüller, 1914; Blake, 1916; Levaditi y col., 1926; Brown y Nunemaker, 1942). También causa una enfermedad epidémica producida por la leche que se conoce como *fiebre de Haverhill*, porque la ciudad de Haverhill, en Massachusetts, fué el primer lugar donde se registró un brote epidémico en 1926 por Place y sus colaboradores.

En el mismo año *Streptobacillus moniliformis* fué aislado e identificado independientemente por Parker y Hudson y por Levaditi. Un brote epidémico más extenso, en el cual se infectaron 86 individuos, ocurrió en Massachusetts en 1934 (Place y Sutton, 1934). Se ha supuesto que la leche se contamina de las vacas infectadas o por las ratas que beben en vasijas descubiertas.

Las cepas recogidas de los pacientes infectados por mordedura de rata son idénticas a las cepas cultivadas de individuos que adquirieron la enfermedad por beber leche infectada (Dawson y Hobby, 1940).

El nombre de fiebre por mordedura de rata es algo ambiguo, ya que las ratas silvestres llevan también una espiroqueta, *Spirillum minus*, la cual, cuando se introduce en un ser humano por mordedura (página 619), inicia una enfermedad con los mismos caracteres clínicos generales que la producida por *Streptobacillus moniliformis* (Allbritten y col., 1940). En algunos casos ambos organismos han sido introducidos simultáneamente por la misma mordedura (Brown y Nunemaker, 1942).

Streptobacillus moniliformis es un bacilo pleomórfico *gramnegativo, no esporulado, no capsulado, inmóvil*, que mide 0,4 a 0,6 μ de ancho y de 1 a 30 ó 40 μ de largo. En los cultivos se encuentran formas cocobacilares, bacilares, ramificadas y en maza. Organismos del tipo de la pleuroneumonía se encuentran asociados en la mayor parte de las cepas aisladas de las ratas y del hombre, ya sea en simbiosis o como formas variantes (página 623).

Este organismo es *anaerobio facultativo;* se aísla mejor en un medio que contenga suero o líquido de ascitis, incubado en presencia de CO_2 al 10 por ciento.

El bacilo se desarrolla en la membrana corioalantoidea del embrión de pollo en evolución, pero por lo usual invade las articulaciones, donde se multiplica primeramente en las células de las membranas sinoviales (Buddingh, 1944). Los ratones son sensibles a la infección experimental.

En el hombre, la enfermedad empieza pocos días después de la introducción del organismo por la mordedura de rata. Aparece un tipo de fiebre irregular que puede persistir durante semanas o meses.

Al principio de la enfermedad se manifiesta una erupción de tipo morbiliforme en la piel de las extremidades y *artritis* generalizada más o menos intensa. Estos microorganismos suelen ser más fáciles de aislar de la sangre que de la herida original. Aparecen en la sangre aglutininas específicas 10 a 75 días después de la infección y persisten durante meses después que el paciente se ha restablecido (Brown y Nunemaker, 1942).

La *penicilina* en grandes dosis es moderadamente eficaz si se administra al principio de la enfermedad.

ACTINOBACILOSIS

Familia: *Parvobacteriaceae* Rahn. Grupo: *Pasteurelleae* Castellani y Chalmers. Género: *Actinobacillus* Brumpt. Especie: *Actinobacillus lignieresi* Brumpt

Actinobacillus lignieresi fué aislado en Argentina, en 1902, por Lignières y Spitz. Estos microorganismos fueron cultivados de vacas que presentaban un síndrome clínico de actinomicosis. La investigación posterior ha demostrado que *Actinobacillus* es responsable del 50 al 60 por ciento de las infecciones del ganado vacuno designadas comúnmente como "actinomicosis" (Thompson, 1933).

El bacilo es *gramnegativo, no esporulado, no capsulado, inmóvil* y mide alrededor de 0,4 μ de ancho y 1 a 15 μ de largo. El organismo es pleomórfico: a veces predominan las formas cocobacilares. Con frecuencia se observa tinción bipolar. En los tejidos, los bacilos se encuentran en acúmulos en el centro de gránulos que semejan los "granos de azufre" de la actinomicosis, pero son *gramnegativos* y *no presentan formas ramificadas.*

Es *aerobio* pero también *anaerobio facultativo*, aunque la incubación en una atmósfera con 10 por ciento de CO_2 favorece el aislamiento primario. La temperatura óptima para el desarrollo es de 37° C. La mayor parte de los cultivos primarios han sido obtenidos en placas vertidas de agar-suero o agar-ascitis con porciones machacadas de los tejidos infectados o sembrándolas por mezcla en tubos fundidos de agar-suero (Custis y col., 1944).

Después de incubación de 24 a 48 horas aparecen colonias grisazuladas, circulares, translúcidas, con bordes enteros que por incubación prolongada alcanzan un tamaño de 4 mm. Si se conservan en recipientes herméticamente cerrados los organismos pueden sobrevivir durante meses en el pus original, pero en los cultivos mueren si no se resiembran cada tres o cuatro días. Los bacilos mueren en diez minutos a 62° C.

Hay acuerdo general en que *Actinobacillus lignieresi* está relacionado, tanto desde el punto de vista antigénico como de cultivo, con *Malleomyces mallei* y *Malleomyces pseudomallei* (Stanton y Fletcher, 1925; Thompson, 1933).

La enfermedad espontánea en el ganado vacuno se difunde, al parecer, por contacto directo. Los cobayos y ratones pueden ser infectados por inoculación intraperitoneal. La inyección intraperitoneal de grandes dosis de microorganismos a un cobayo macho produce una inflamación de los testículos semejantes a la reacción de Strauss en el muermo (pág. 404).

Ravant y Pinoy publicaron en 1911 el primer caso de enfermedad en el hombre. El segundo caso, primero registrado en los Estados Unidos, fué observado por Thompson y Willius en 1932. Beaver y Thompson (1933) publicaron un caso de infección humana mortal por *Actinobacillus lignieresi* caracterizada por bronconeumonía aguda. Custis y sus colaboradores publicaron en 1944 una revisión de la literatura con referencia de los hallazgos necrópsicos en un caso de *Actinobacillus endocarditis.*

El yoduro potásico es muy eficaz en el tratamiento de la enfermedad espontánea del ganado vacuno y ha sido usado con cierto éxito en las formas crónicas de la enfermedad en el hombre (Thompson y Willius, 1932). La forma aguda de la enfermedad en el hombre deberá ser tratada con sulfonamidas y penicilina o, posiblemente, con estreptomicina.

Actinobacillus actinoides fué aislado de una infección pulmonar crónica en terneros por Teobaldo Smith en 1918.

Actinobacillus actinomycetemcomitans ha sido aislado de casos confirmados de actinomicosis en el hombre por Klinger (1912) y Bayne-Jones (1925). Las cepas cultivadas no son patógenas para los animales; el papel de este microorganismo en la enfermedad actinomicótica es aún obscuro.

DIALISTER PNEUMOSINTES

Familia: *Parvobacteriaceae* Rahn. Género: *Dialister* Bergey y col. Especie: *Dialister pneumosintes* (Olitsky y Gates) Bergey y col.

D. pneumosintes es un bacilo diminuto, filtrable, *no esporulado, no capsulado, inmóvil*, que mide 0,15 a 0,3 μ de ancho y 0,5 a 1 μ de largo. Es *anaerobio estricto* y suele aislarse del fil-

trado del líquido de lavado de la nasofaringe, por cultivo en medios que contienen riñón fresco de conejo y líquido de ascitis. Se pueden obtener colonias aisladas sembrando el material con el asa en placas de agar glucosado con sangre de conejo e incubado en condiciones estrictamente anaerobias. Después de cuatro a siete días de incubación las colonias son claras, circulares, translúcidas y enteras, pero tan pequeñas que apenas resultan visibles.

Los cultivos son ligeramente patógenos para los conejos y cobayos; cuando se introducen por vía intratraqueal producen neumonitis.

Aunque *D. pneumosintes* ha sido aislado de casos clínicos típicos de influenza no es la causa de esta enfermedad (Cap. LV). *D. pneumosintes* y otros anaerobios filtrables relacionados han sido aislados de pacientes con catarros y de individuos normales (Olitsky y McCartney, 1923; Garrod, 1928; y Mills y col., 1928). Los últimos autores obtuvieron el bacilo del 75 por ciento de los individuos normales usando para lavado de la nasofaringe caldo tamponado en lugar de solución salina fisiológica.

NOGUCHIA GRANULOSIS

Familia: *Parvobacteriaceae* Rahn. Género: *Noguchia* Olitsky y col. Especie: *Noguchia granulosis* (Noguchi) Olitsky y col.

Noguchia granulosis fué aislado por Noguchi en 1928 de casos clínicos de tracoma en indios americanos cerca de Alburquerque, Nuevo México. Es un pequeño bacilo pleomórfico, *gramnegativo, flagelado, móvil, capsulado, no esporulado.* Mide 0,25 a 0,3 μ de ancho y 0,8 a 1,2 μ de largo y posee un solo flagelo polar.

N. granulosis es *aerobio*, pero también *anaerobio facultativo*. El desarrollo máximo tiene lugar a una temperatura de 15° a 30° C. a pH 7,8 en el medio semisólido empleado para cultivo de *Leptospira*. Los cultivos puros de este organismo producen una conjuntivitis granular en monos y grandes antropoides (Olitsky, 1930).

Organismos estrechamente relacionados, *Noguchia simiae* y *Noguchia cuniculi*, han sido aislados de conjuntivitis folicular espontánea de monos y conejos (Olitsky y col., 1934).

Estos organismos pueden producir una conjuntivitis folicular en el hombre y en los animales, pero la mayor parte de los investigadores creen que tal conjuntivitis no es el tracoma ya que los estudios modernos señalan que un virus causa probablemente el tracoma (Cap. LX).

BARTONELLA BACILLIFORMIS Y FIEBRE DE OROYA

Familia: *Bartonellaceae* Gieszczykiewicz. Género: *Bartonella* Strong y col. Especie: *Bartonella bacilliformis* (Strong y col.) Strong y col.

Desde tiempos antiguos los habitantes de ciertas regiones del Perú han sufrido una enfermedad caracterizada por fiebre, anemia y una erupción verrucosa nodular; muchos han muerto. La infección se manifiesta en dos formas clínicas distintas: 1) *verruga peruana*, en la cual la erupción es el sistema predominante, y 2) *fiebre de Oroya*, que se caracteriza por fiebre y anemia intensa. El problema de si las enfermedades eran entidades clínicas separadas o manifestaciones diferentes de la misma enfermedad fué planteado, según parece, en 1885 por Daniel Carrión, estudiante de medicina en Lima, quien se inoculó con sangre de un nódulo verrucoso. Dicho investigador murió, presumiblemente por fiebre de Oroya, veintitrés días después y la infección es denominada con frecuencia *enfermedad de Carrión* en reconocimiento de su sacrificio. Las subsiguientes investigaciones bacteriológicas y de transmisión han demostrado que las dos enfermedades son en realidad manifestaciones diferentes del mismo proceso infeccioso. En 1905 Barton encontró un pequeño cocobacilo en los *glóbulos rojos*, a veces fuera de ellos en la sangre de pacientes con fiebre de Oroya. Strong en 1913 denominó al organismo *Bartonella bacilliformis*. En 1926 Noguchi cultivó el bacilo de la sangre de pacientes con fiebre de Oroya.

En condiciones naturales *Bartonella bacilliformis* se multiplica en los glóbulos rojos del hombre. El microorganismo varía en tamaño desde diminutos cuerpos cocoides a bacilos cor-

tos, de 0,25 a 0,5 μ de ancho y 1 a 3 μ de largo. Cuando se desarrollan en los cultivos son bacilos *gramnegativos, móviles, no capsulados, no esporulados.* Son aerobios obligados y se desarrollan mejor a 28° C. en agar semisólido que contenga suero fresco y hemoglobina de conejo, con tejido fresco o sin él. También se pueden cultivar en el líquido corioalantoideo y en el saco vitelino del embrión de pollo en germinación.

Con cultivos puros, Noguchi (1926) produjo fiebre de Oroya atípica pero también lesiones verrugosas típicas, en varias especies de monos.

La mortalidad de la fiebre de Oroya varía entre 18 y 95 por ciento, con promedio del 40 por ciento. La mortalidad de la forma verrugosa, sin embargo, es muy baja (Merino, 1945). El restablecimiento de una u otra forma de la enfermedad va acompañado de inmunidad permanente y los sueros de convalecientes contienen anticuerpos aglutinantes y fijadores del complemento que reaccionan con cepas de *Bartonella bacilliformis* aisladas de ambos tipos de infección.

En condiciones naturales la infección se transmite al hombre por picadura de *Phlebotomus verrucarum* y *Phlebotomus noguchii.*

La *penicilina* inhibe el desarrollo de *Bartonella bacilliformis* en los cultivos (Aldana y Tisnado-Muñoz, 1945) y parece ser eficaz en el tratamiento de pacientes con fiebre de Oroya (Merino, 1945).

Entre los organismos afines que parasitan los glóbulos rojos de los animales hállanse *Haemobartonella muris* (Koref y Romban, 1945), *Grahamella talpae* y *Eperythrozoon coccoides.*

Un estudio detallado de estos parásitos de los glóbulos rojos de la sangre se puede encontrar en el artículo de Weinmann (1944) y en la tercera edición de *Principles of Bacteriology and Immunity* (1946), de Topley y Wilson.

LACTOBACILOS

Familia: *Lactobacteriaceae* Orla-Jensen. Grupo: *Lactobacilleae* Winslow y col. Género: *Lactobacillus* Beijerinck. Especie: *Lactobacillus acidophilis* (Moro) Holland

Los lactobacilos son bacterias pleomórficas *grampositivas, aerobias, no esporuladas, inmóviles,* que suelen presentarse como bacilos largos y finos. Se caracterizan, como grupo, por la facultad de producir grandes cantidades de ácido láctico al hacer fermentar los carbohidratos y por la capacidad de sobrevivir en un medio ácido (pH 3,0-4,5). A causa de la última propiedad fueron considerados antiguamente como acidófilos. Se ha demostrado, sin embargo, que el desarrollo máximo tiene lugar a una reacción más próxima a la neutralidad, por lo que debieran ser llamados *acidúricos.*

Los *requerimientos nutritivos* de este grupo son algo complejos; incluyen la mayor parte, si no todas, las vitaminas del complejo B y muchos aminoácidos (Weisberger y Johnson, 1946). Precisamente por esta dependencia de los lactobacilos de una fuente externa de vitaminas y aminoácidos, ciertas especies, como *L. casei,* han sido utilizadas ampliamente para determinaciones microbiológicas de vitaminas del complejo B y de diversos aminoácidos.

Algunos de los organismos son de especial interés para los bacteriólogos clínicos por hallarse en los intestinos, boca y genitales y tener posible papel en la producción de caries dentarias.

Desde el punto de vista de la bacteriología médica, *Lactobacillus acidophilus* es el miembro más importante del grupo; por lo tanto, es el único que será descrito con algún detalle.

L. acidophilus suele encontrarse en el intestino de los animales de sangre caliente. Es un bacilo grampositivo, que mide 0,6 a 0,8 μ de diámetro y 2 μ de largo; aparece en los frotis aislado, en cadenas más o menos largas o, en ocasiones, como un filamento largo. *No forma esporas* y es *inmóvil.*

Este microorganismo es *microaerófilo.* Algunas cepas requieren anhídrido carbónico para el desarrollo normal. La temperatura óptima suele ser de 43° C., pero con frecuencia los cultivos se desarrollan a 46° C. ó 48° C. Rara vez hay desarrollo a temperaturas de 20° C. o más baja.

Las colonias suelen presentar delicadas excrecencias filamentosas que le dan aspecto rugoso o lanoso, pero en el mismo cultivo se pueden encontrar colonias redondas lisas. En casos excepcionales todas las colonias pueden ser lisas. En caldo con carbohidratos, a la temperatura

de la incubadora, se forma un precipitado granular y hay poco o ningún enturbiamiento del medio. Casi siempre hacen fermentar la maltosa, la sacarosa y la rafinosa. Coagulan la leche, a veces muy lentamente, produciendo coágulo fino. Reducen el tornasol. En la fermentación de la lactosa se forma una mezcla ácida que incluye ácidos volátiles generalmente en proporción de 12 a 20 por ciento del ácido total. Los ácidos volátiles son el fórmico, acético y butírico. El ácido láctico es en su totalidad de tipo inactivo (racémico).

Se forma anhídrido carbónico, pero en tan pequeña cantidad que no puede ser descubierto en la leche o en los tubos de fermentación ordinarios.

Infección clínica en el hombre. *L. acidophilus* no produce infección en el hombre, aunque algunos investigadores creen que tiene importancia en la producción de *caries dental* (McIntosh y col., 1924; Bunting y col., 1930; Jay, 1938). La etiología de la caries dental es aún obscura; probablemente desempeñan cierto papel factores como los componentes hidrocarbonados de la dieta, vitaminas, hormonas reguladoras del metabolismo calciofosfórico y la herencia. Las caries de los dientes contienen invariablemente organismos productores de ácido láctico, pero es difícil de determinar si su presencia allí es la consecuencia o la causa de la lesión. Bradel y Blayney (1940) y Hemmens y col. (1943) han demostrado que hay estrecha relación entre el número de lactobacilos, su capacidad de producir un pH bajo y la presencia de caries dentaria. Anderson y Rettger (1937) consideran a los estreptococos capaces de producir caries dental.

L. acidophilus tuvo importancia hace algunos años para tratamiento de ciertos desórdenes gastrointestinales, particularmente en pacientes con estreñimiento y diarrea o molestias vagas. Se podían establecer ciertas cepas del microorganismo en el intestino; cuando se administraban al paciente carbohidratos como lactato o dextrina, junto con leche o alimentos, se creía que hacía al medio inadecuado para ciertas bacterias de putrefacción.

Lactobacillus bulgaricus es difícil de distinguir de *L. acidophilus* (Kendall, 1931; Rettger, 1932; Kopeloff, 1926) por sus reacciones de fermentación y sus relaciones ecológicas. *L. bulgaricus* normalmente es un saprófito que acidifica la leche y no tiene capacidad para establecerse por sí mismo en el intestino como lo hace *L. acidophilus*. *L. bulgaricus* tuvo importancia por el año 1908, cuando Metchnikoff popularizó su teoría, de que se podía alcanzar edad avanzada y curar o evitar muchas enfermedades bebiendo leche agria, como era costumbre en Bulgaria. Por algún tiempo beber leche agria llegó a ser una moda y se publicó mucha literatura poco científica. Muchos absurdos sobre la transformabilidad de la flora intestinal fueron esclareciéndose por las investigaciones científicas de Rettger, Kendall, Torrey y otros autores.

El *bacilo de Döderlein* es un organismo grande, pleomórfico, grampositivo, que se ve comúnmente en los frotis de vagina. Probablemente es idéntico a *L. acidophilus* (Cruickshank, 1931).

El bacilo de Boas-Oppler, encontrado en el contenido del estómago de los pacientes con retención gástrica, es una variedad de *L. acidophilus*.

Lactobacillus bifidus es un organismo grampositivo que aparece con frecuencia en forma de Y: fué aislado primeramente por Tissier (1900) en las heces de niños alimentados al pecho. Tissier creyó que este organismo estaba emparentado con *L. acidophilus* de Moro (1900), pero no era idéntico a él.

Para mayor información, remitimos al lector a los trabajos de Rettger y Cheplin (1921), Kopeloff (1926), Rogers y col. (1933) y a la bibliografía de Frost y Hankinson (1931).

BIBLIOGRAFIA

ALDANA, G. L., and TISNADO-MUÑOZ, S. *Rev. Méd. Peruana*, 1945, 18:343-(410d).
ALLBRITTEN, F. F., SHEELY, R. F., and JEFFERS, W. A. *J.A.M.A.*, 1940, 114:2360.
ANDERSON, T. G., and RETTGER, L. F. *J. Dental Res.*, 1937, 16:489.
BARBER, M., NELLEN, M., and ZOOB, M. *Lancet*, 1946, 1:125.
BAYNE-JONES, S. *J. Bacteriol.*, 1925, 10:569.
BEAVER, D. C., and THOMPSON, L. *Am. J. Path.*, 1933, 9:603.
BEVERIDGE, W. I. B. *J. Path. & Bacteriol.*, 1934, 38:467.
BLAKE, F. G. *J. Exper. M.*, 1916, 23:39.
BRADEL, S., and BLAYNEY, J. R. *J. Am. Dent. Ass.*, 1940, 27:1601.

BREED, R. S., MURRAY, E. G. D., and HITCHENS, A. P. Bergey's *Manual of Determinative Bacteriology*, Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1948.
BREWER, J. H. *J.A.M.A.*, 1940, 115:598.
BROWN, T. McP., and NUNEMAKER, J. C. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1942, 70:201.
BUDDINGH, G. J. *J. Exper. M.*, 1944, 80:59.
BUHLER, V. B., SEELY, C. W., and DIXON, D. D. *Am. J. Clin. Path.*, 1942, 12:380.
BUNTING, R. W., HALLEY, F. D., JAY, P., and HARD, D. G. *Am. J. Dis. Child.*, 1930, 40:536.
BURDON, K. L. *J. Infect. Dis.*, 1928, 42:161.
BURN, C. *J. Bacteriol.*, 1935, 30:573.
CRUICKSHANK, R. *J. Hyg.*, 1931, 31:375.
CUSTIS, D. L., HALLEY, H., and BACON, C. M. *Arch. Path.*, 1944, 38:332.
DACK, G. M. *Bacteriol. Rev.*, 1940, 4:227.
DAWSON, M. H., and HOBBY, G. *Proc. Third Internat. Cong. for Microbiol.*, New York, 1940. Section 1, 177.
DIENES, L., and SMITH, W. E. *J. Bacteriol.*, 1944, 48:125.
EHRLICH, J. C. *Arch. Int. Med.*, 1946, 78:565.
FROST, W. D., and HANKINSON, H. *Lactobacillus Acidophilus*, Milton, Wisc., 1931.
GARROD, L. P. *Brit. J. Exp. Path.*, 1928, 9:155.
GREY, C. G. *Vet. Med.*, 1947, 42:216.
GRIFFIN, A. M., and ROBBINS, M. L. *J. Bacteriol.*, 1944, 48:114.
HANDELMAN, N. I., ROTONDO, C. C., SCOTT, E. P., and KNIGHTON, H. T. *J. Pediat.*, 1946, 28:210.
HARRIS, J. W., and BROWN, J. H. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1927, 40:203.
HARVEY, P. C., LIBBY, R. L., and WALLER, B. B. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1945, 60:307.
HEMMENS, E. S., BLAYNEY, J. R., HARRISON, R. W., and BRADEL, S. F. *J. Dent. Res.*, 1943, 22:223.
HINE, M. K., and BERRY, G. P. *J. Bacteriol.*, 1937, 34:517.
JAY, P. *Am. J. Pub. Health*, 1938, 28:759.
JORDAN, E. O., and BURROWS, W. *Textbook of Bacteriology*, 14th ed., W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1945.
JULIANELLE, L. A. *Ann. Int. Med.*, 1940, 14:608.
——— and PONS, C. A. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1939, 40:364.
KELLY, F. C. *J. Inf. Dis.*, 1944, 74:93.
KENDALL, A. I. *Bacteriology, General, Pathological and Intestinal*, Philadelphia, 1931.
KLAUDER, J. V. *J.A.M.A.*, 1938, 111:1345.
———, KRAMER, D. W., and NICHOLAS, L. *J.A.M.A.*, 1943, 122:938.
KLINGER, R. *Centralbl. f. Bakt.*, I Abt., Orig., 1912, 62:191.
KOCH, R. *Investigations into the Etiology of Traumatic Infective Disease*, New Sydenham Soc., London, 1880.
KOPELOFF, N. *Lactobacillus Acidophilus*, Baltimore, 1926.
KOREF, O., and ROMBAN, T. E. *Ann. Soc. Biol. Bogotá*, 1945, 2:66.
LEVADITI, C., NICOLAU, S., and POINCLOUX, P. *Presse Méd.*, 1926, 34:340.
LEWIS, K. H., and RETTGER, L. F. *J. Bacteriol.*, 1940, 40:287.
LIGNIÈRES, J., and SPITZ, G. *Bull. Soc. Cent. Med. Vet.*, 1902, 20:487, 546.
——— and SPITZ, G. *Rev. Soc. Med. Argent.*, 1902, 10:105.
LÖFFLER, F. *Mitt. Reichsgsndhtsamte.*, 1884, 2:421.
——— *Arb. Reichsgesundhtsamte.*, 1886, 1:46.
LONGCOPE, W. T. *Am. J. M. Sc.*, 1922, 164:781.
MCGINNES, G. F., and SPINDLE, F. *Amer. Jour. Pub. Health*, 1934, 23:32.
MCINTOSH, J., JAMES, W. W., and LAZARUS-BARLOW, P. *J. Exper. Pathol.*, 1922, 3:138; 1924, 15:175.
MERINO, C. *Rev. méd. Peruana*, 1945, 18:329.
——— *J. Lab. & Clin. Med.*, 1945, 30:1021.
METCHNIKOFF, E. *Prolongation of Life*, New York, 1908.
MILLS, K. C., SHIBLEY, G. S., and DOCHEZ, A. R. *J. Exper. M.*, 1928, 47:193.
MORO, E. *Jahrb. f. Kinderh.*, 1900, 52:38.
MURRAY, E. G. D., WEBB, R. A., and SWANN, M. B. R. *J. Path. & Bacteriol.*, 1926, 29:407.
NOGUCHI, H. *J. Exper. M.*, 1926, 43:851; 1926, 44:543, 697, 715, 729; 1928, 48:Suplemento Nº 2, 1-53.
OLITSKY, P. K. *Tr. Am. Acad. Ophth. Oto-Laryngol.*, 1930, 225.
——— and GATES, F. L. *J. Exper. M.*, 1921, 33:713; 1922, 35:813.
——— and MCCARTNEY, J. E. *J. Exper. M.*, 1923, 38:427.
———, SYVERTON, J. T., and TYLER, J. R. *J. Exper. M.*, 1934, 60:375.
OLIVER, W. W., and WHERRY, W. B. *J. Infect. Dis.*, 1921, 28:341.
PARKER, F., JR., and HUDSON, N. P. *Am. J. Path.*, 1926, 2:357.
PASTEUR, L., and THUILLIER. *Compt. rend. Acad. Sci.*, 1883, 97:1163.
PATTERSON, J. S. *J. Path. & Bacteriol.*, 1940, 51:427.
PESCH, K. L., and SCHMITZ, L. *Zbl. Bakt.*, 1936, 136:476.
PFEIFFER, E. *Jahrb. f. Kinderh.*, 1889, 29:257.
PLACE, E. H., SUTTON, L. E., and WILLNER, O. *Boston Med. & Surg. Jour.*, 1926, 194:285.

——— and Sutton, L. E. *Arch. Int. Med.*, 1934, 54:659.
Porter, J. R., and Hale, W. M. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1939, 42:47.
Poston, M. A., Upchurch, S. E., and Booth, M. *J. Pediat.*, 1937, 11:515.
Ravant, P., and Pinoy. *Presse Méd.*, 1911, 19:49.
Rettger, L. F. *Yale J. Biol. & Med.*, 1932, 4:485.
——— and Cheplin, H. A. *Treatise on the Transformation of the Intestinal Flora with Special Reference to the Implantation of Bacillus Acidophilus.* New Haven, 1921.
Robbins, M. L., and Griffin, A. M. *J. Immunol.*, 1945, 50:237, 247.
Rogers, L. A., Curran, H. R., and Whittier, E. O. *J. Bacteriol.*, 1933, 25:595.
Rosenbach, F. J. *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, 1909, 58:343.
Rosenwald, A. S., and Dickinson, E. M. *Am. J. Vet. Res.*, 1941, 2:202.
Schmorl, G. *Deutsch. Ztschr. f. Thiermed.*, 1891, 17:375.
Schottmüller, H. *Derm. Wchnschr.*, 1914, 58:77, Suppl.
Schultz, E. W. *Standard Med. Bull.*, 1945, 3:135.
Seastone, C. V. *J. Exper. M.*, 1935, 62:203.
Smeall, J. T. *Edinburgh Med. J.*, 1942, 49:291.
Smith, T. *J. Exper. M.*, 1918, 28:333.
Smith, D. T. *Oral Spirochetes and Related Organisms in Fuso-Spirochetal Disease,* Baltimore, 1932, 14-20.
Smith, W. E., and Ropes, M. W. *New Eng. J. Med.*, 1945, 232:31.
Spaulding, E. H., and Rettger, L. F. *J. Bacteriol.*, 1937, 34:535, 549.
Sprunt, T. P., and Evans, F. A. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1920, 31:410.
Stanton, A. T., and Fletcher, W. *J. Hyg.*, 1925, 23:347.
Thompson, L., and Willius, F. A. *J.A.M.A.*, 1932, 99:298.
——— *J. Bacteriol.*, 1933, 26:221.
——— *J. Infect. Dis.*, 1933, 52:223.
Tissier, H. *Étude sur la flore intestinale normale et pathologique chez le nourrison,* Paris, 1900.
Topley, W. W. C., and Wilson, G. S. *The Principles of Bacteriology and Immunity,* 3rd ed., Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1946.
Tullis, J. L., and Mordvin, O. E. *Am. J. Clin. Path.*, 1946, 16:395.
Tunnicliff, R., and Hammond, C. *J. Infect. Dis.*, 1937, 61:26.
Varney, P. L. *J. Bacteriol.*, 1927, 13:275.
Veillon, A., and Zuber, A. *Arch. Méd. Exp.*, 1898, 10:517.
Vincent, H. *Ann. de l'Inst. Pasteur.* 1806, 10:488.
Watts, P. S. *J. Path. & Bacteriol.*, 1940, 50:355.
Webb, R. A. *Lancet*, 1943, 2:5.
Weinmann, D. *Trans. Am. Philo. Soc.*, 1944, 33:243. Pt. III.
Weisberger, D., and Johnson, F. G. *J. Dent. Research*, 1946, 25:35.
Weiss, C., and Mercado, D. G. *J. Exper. M.*, 1938, 67:49.
——— *Surgery*, 1943, 13:683.
Weiss, J. E., and Rettger, L. F. *J. Bacteriol.*, 1937, 33:423.
——— and Rettger, L. F. *J. Infect. Dis.*, 1938, 62:115.

PARTE IV

ESPIROQUETAS

CAPITULO XLV

ESPIROQUETAS

Orden: *Spirochaetales*

Las espiroquetas son organismos filamentosos finos, ondulados, en forma de tirabuzón, relativamente flexibles. Hállanse en todas partes, especialmente en el suelo, agua, materia orgánica en descomposición y en las plantas, los animales y el hombre. Algunas espiroquetas son saprófitas, otras comensales, otras patógenas, y causan enfermedades muy graves de los seres humanos y de los animales inferiores. Entre las patógenas están las espiroquetas que causan enfermedades en el hombre, como sífilis, pian, fiebre recurrente, ictericia hemorrágica, etc. Otras espiroquetas causan diversas septicemias en aves y mamíferos.

Las espiroquetas fueron de los primeros microorganismos que se vieron y dibujaron. En 1681, Leeuwenhoek escribió que había visto, en sus propias heces, animalúnculos muy pequeños, de forma de "anguilas de río", que tenían "un movimiento muy rápido y arqueaban sus cuerpos a manera de serpientes y pasaban a través de las partículas de materia tan rápidamente como un esturión en el agua" (Dobell, 1932). Según Dobell, de quien copiamos la cita, "es casi seguro que estos organismos fueran espiroquetas". La forma G, en el dibujo de animalúnculos de Leeuwenhoek vistos en las raspaduras de sus dientes, que hemos reproducido como figura 2 en el Capítulo I de este libro, fué publicada en 1695. Es la imagen clara de una espiroqueta, a la cual Dobell consideró como *Borrelia buccale (Spirochaeta buccalis)*. En 1837, Donné vió espiroquetas en frotis de los genitales y de lesiones venéreas.

El nombre científico *Spirochaeta* fué aplicado por Ehrenberg, en 1838, a un organismo espiral, grande, de vida libre, cuyo protoplasma parecía estar envolviendo un filamento axial. Obermeier, en 1873, registró la presencia de formas espirales filamentosas en la sangre de pacientes con fiebre recurrente. Otros investigadores vieron y estudiaron espiroquetas de tiempo en tiempo, pero como las formas espirales son mucho más difíciles de ver, teñir y cultivar que las bacterias, el progreso de los conocimientos adquiridos sobre su naturaleza y propiedades fué lento e incierto. El período moderno de la investigación de las espiroquetas empezó en 1904, cuando Schaudinn y otros protozoólogos se ocuparon de este campo. Antes de este tiempo las espiroquetas eran clasificadas con las bacterias. Los protozoólogos, sin embargo, estudiando un pequeño protozoario parásito, observaron que en el mosquito vector parecía tener una fase filamentosa espiral. Concluyeron, por lo tanto, que las espiroquetas eran de la naturaleza de los protozoarios y en 1905, cuando Schaudinn y Hoffmann descubrieron la espiroqueta causa de la sífilis, a la que denominaron *Treponema pallidum*, la consideraron como un protozoario. Muchos otros

protozoólogos han seguido a Schaudinn y colocan a las espiroquetas entre los protozoarios.

Naturaleza de las espiroquetas. Los investigadores mejor calificados para expresar opinión sobre la naturaleza de las espiroquetas no están de acuerdo en cuanto a si estos organismos son bacterias o protozoarios. Las espiroquetas tienen características en común con ambos grupos de microorganismos y propiedades particulares que las distinguen como clase. Al presente se cree que las espiroquetas están más estrechamente relacionadas con las bacterias que con los protozoarios.

Caracteres generales de las espiroquetas. Los datos más importantes de estos organismos los indicamos a continuación (Ford, 1927; Noguchi, 1918).

Morfología. Las espiroquetas tienen espiras cortas o largas, con vueltas en las tres dimensiones. El tamaño varía grandemente, desde 2 μ a 500 μ de longitud. Son organismos unicelulares. Algunas formas tienen un filamento axial elástico, pero en las formas pequeñas la existencia de este filamento no ha sido probado. El cuerpo celular suele ser cilíndrico y redondo en sección transversal. Las *espirales* son relativamente fijas, pero algo extensibles. El número de espiras en algunas formas tiene importancia diagnóstica, pero varía. La distancia entre las crestas de las espiras, la amplitud o distancia de la cresta de la espira a la línea media y el ángulo que entre sí forman las espiras, se añaden a estas espirales fundamentales. Excepto en *Spirochaeta plicatilis,* no hay pared celular, pero se encuentra una membrana elástica delgada. No se ha demostrado núcleo definido. Algunas de las formas, en particular las variedades de mayores dimensiones, contienen gránulos de volutina; los organismos grandes de los géneros *Saprospira* y *Cristispira* tienen estructura tabicada. Las espiroquetas no tienen membranas ondulantes.

Flexibilidad. Todas las espiroquetas son más flexibles que las bacterias, pero su flexibilidad varía según las especies. Zinsser y Hopkins (1916) encontraron en testículos de conejo un organismo tan poco flexible que propusieron para él el nombre de *Treponema rigidum*. Las espiroquetas patógenas son todas muy flexibles.

Formación de esporas y gránulos. Las espiroquetas no forman endosporas resistentes. En los cultivos viejos, en algunas lesiones y en los huevos de los insectos vectores sólo se pueden encontrar formas granulares diminutas. En ocasiones algunas espiroquetas pueden acompañar a estos gránulos haciendo difícil de determinar si los gránulos por sí solos son capaces de reproducción o de infectar. Indudablemente algunas espiroquetas tienen una fase granular.

Filtrabilidad. Varios observadores han obtenido filtrados infecciosos de espiroquetas de los tipos fiebre recurrente y leptospiras. Estos organismos, en forma granular o espiral pasan a través de los filtros Berkefeld V y N. Noguchi y otros autores no lograron obtener filtrados de Berkefeld que contuviesen *Treponema pallidum*. Esta cuestión abarca los aspectos físicos de la filtración y la forma y naturaleza de los microorganismos. Ha sido demostrado para *Treponema pallidum* un paso lento a través de un filtro por desarrollo a lo largo de los poros.

Motilidad. Las espiroquetas son móviles. Progresan por movimientos sinuosos y rotatorios. Algunas de ellas tienen delicados filamentos terminales; se han encontrado verdaderos flagelos o estructuras seudoflagelares en *Treponema pallidum* y otras espiroquetas en micrografías electrónicas (Mudd y col., 1942). No se ha demostrado que sean verdaderos órganos de locomoción. Sin embargo, el organismo que causa la fiebre por mordedura de rata y que semeja a una espiroqueta en muchos aspectos, tiene un flagelo en cada extremo.

División. Las espiroquetas se multiplican exclusivamente por división transversal, generalmente en dos partes iguales. Las figuras que se han interpretado como indi-

cadoras de división longitudinal, son consideradas actualmente como formas en V o en Y producidas por inflexión en el punto de división o por espirales parcialmente entrelazadas.

Resistencia. La resistencia a la acción lítica de la saponina y de la bilis varía según las especies, pero como se encuentran las mismas variaciones entre las bacterias, esta propiedad no tiene significación diferencial especial. La resistencia a la plasmólisis y a la plasmoptisis es la misma que se observa en las bacterias. El grado de resistencia al calor es similar al de las bacterias. La mayor parte de las espiroquetas mueren a 60° C. en media hora. Como estos organismos no forman endosporas, su resistencia a las substancias tóxicas y a los agentes físicos es similar a la de las bacterias no esporuladas.

Susceptibilidad a los agentes quimioterápicos. Es notable entre los organismos de ese grupo; las espiroquetas difieren de las bacterias en que son particularmente susceptibles a la destrucción por los compuestos de arsénico, antimonio, bismuto y mercurio y a la penicilina cuando son huéspedes de los animales.

Reacciones tintóreas. Algunas espiroquetas se tiñen rápidamente con los colorantes ordinarios de anilina, pero la mayor parte de las variedades patógenas son difíciles de teñir. Se obtienen los mejores resultados con tinciones como las de Wright, de Giemsa y las basadas en el método de Romanowsky. Las espiroquetas son *gramnegativas.* La impregnación de los microorganismos con nitrato de plata, seguida de la reducción de la plata en el interior del microorganismo es muy útil para demostrar las espiroquetas en los tejidos y en los frotis. El método de Levaditi suele aplicarse a los tejidos; el método de Fontana-Tribondeau se emplea para teñir frotis.

Las espiroquetas patógenas, con un grosor de 0,1 a 0,2 μ, se ven mejor en estado vivo por iluminación en campo obscuro. La *iluminación en campo obscuro* es y debe ser un procedimiento de empleo sistemático en el examen de material para buscar espiroquetas.

Cultivo. La mayor parte de las variedades de espiroquetas han sido cultivadas en medios artificiales. Generalmente para el desarrollo de los organismos se necesita suero, sangre o porciones de tejido. Algunas espiroquetas son aerobias, otras anaerobias.

El cultivo de estos organismos es difícil; con frecuencia cambian sus propiedades en el cultivo, con rápida pérdida de su poder patógeno. Los aspectos de los cultivos no sirven como base para una clasificación.

Nomenclatura. Para clasificación y nomenclatura de las espiroquetas remitimos a los textos y manuales sistemáticos más extensos de bacteriología y protozoología. Estos puntos están aún en disputa y no existe una clasificación o terminología usada por todos los investigadores en este campo. Una causa de estas dificultades es que el término científico *Spirochaeta* sólo es aplicado con propiedad a la forma grande, de vida libre, descrita por Ehrenberg en 1838, la cual tiene poco en común con las formas espirales patógenas que los bacteriólogos médicos están acostumbrados a llamar espiroquetas. Otra fuente de confusión en la nomenclatura ha surgido por el paso de las espiroquetas desde las bacterias a los protozoarios para de nuevo volver a formar parte de las bacterias.

Una clasificación primaria se puede basar en el medio donde viven, el grado de parasitismo y el poder patógeno, aunque parásitos, comensales y saprófitos se encuentran en el mismo género (fig. 119). En esta forma, cabe distinguir:

I. Formas grandes, de vida libre.
II. Espiroquetas que viven en los mejillones.

III. Espiroquetas de los tejidos. Estas son principalmente patógenas, parásitas, de los tejidos animales. En ocasiones se pueden encontrar en la sangre. Algunas de estas formas existen en las mucosas y en el intestino y en este caso no son patógenas. En este grupo colocamos principalmente los *Treponema*, los parásitos de la sífilis y del pian; y los *Leptospira*, de la ictericia hemorrágica. Las formas de lectospira se encuentran también en el agua.
IV. Espiroquetas de la sangre. Los organismos de este grupo causan diversos tipos de fiebre recurrente en el hombre y septicemia en los animales. Existen principalmente en la sangre, pero a veces pueden residir en los tejidos o en las células. Por lo general son organismos escasamente enrollados con espirales indefinidas y largas.

Las espiroquetas de la sangre, rotuladas en el esquema de Noguchi (fig. 119) como *spironema*, recibieron rango genérico bajo el nombre de *Borrelia* en la edición de 1934 del libro *Manual of Determinative Bacteriology* de Bergey. Las espiroquetas han sido de nuevo estudiadas, utilizando la fluorescencia, por Simons (1946) y la morfología de las formas libres ha sido investigada con el microscopio electrónico (Dyar, 1947).

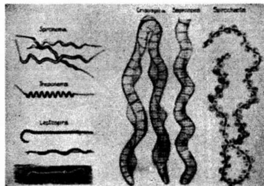


FIG. 119. TIPOS DE ESPIROQUETAS.
Diagrama que muestra los aspectos característicos y las proporciones relativas de *Spirochaeta*, *Saprospira*, *Cristispira*, *Borrelia*, *Treponema* y *Leptospira*. (De Noguchi, 1918.)

La clasificación de las espiroquetas, resumidas del manual de Bergey, 1948, es como sigue:

I. *Spirochaeta.* No parásitos, con cuerpo ondulado, flexible. El protoplasma arrollado en espiral alrededor de un filamento axial bien definido. Motilidad por deslizamiento. Espiral primaria permanente. Vida libre en el cieno de agua dulce o salada. Especie tipo: *Spirochaeta plicatilis* Ehrenberg.
II. *Saprospira.* Protoplasma espiral sin filamento axial evidente. Motilidad activa y rotatoria. Vida libre en el fango del mar. Especie tipo: *Saprospira grandis* Gross.
III. *Cristispira.* Cuerpos celulares flexuosos, con espirales groseras, de 28 a 120 micras de longitud. Caracterizados por una cresta o una membrana delgada más o menos prominente en un lado del cuerpo. Encontradas en el intestino de moluscos. Especie tipo: *Cristispira balbianii* (Certes) Gross.

IV. *Borrelia.* Longitud 8 a 16 micras. Espirales irregulares, poco profundas, groseras. Algunos son patógenos para el hombre, otros mamíferos y algunas aves. Generalmente se encuentran como hematófitos en las mucosas. Especie tipo: *Borrelia anserina* (Sakharoff) Bergey y col.

V. *Treponema.* Longitud 3 a 18 micras. Protoplasma en espirales agudas, regulares o irregulares. Patógenos y parásitos, para el hombre y animales. Especie tipo: *Treponema pallidum* (Schaudinn y Hoffmann) Schaudinn.

VI. *Leptospira.* Organismos finamente enrollados, de 6 a 20 micras de longitud. Espirales de 0,3 micras de profundidad y 0,4 micras de longitud. En medio líquido uno o ambos extremos están flexionados en gancho semicircular. Especie tipo: *Leptospira icterohaemorrhagiae* (Inada e Ido) Noguchi.

En esta clasificación no hay lugar para el organismo espiral que causa la fiebre por mordedura de rata. Este organismo fué llamado *Spirochaeta morsus-muris* por su descubridor. Es una pequeña forma espiral rígida, con uno o más flagelos en cada extremo. Los autores ingleses en particular consideran este organismo como predominantemente bacteriano y lo han denominado *Spirillum minus* (Carter). Bayne-Jones considera que guarda estrecha relación con las espiroquetas. Otros organismos similares han sido encontrados en el contenido del estómago y en los intestinos de animales. Para ellos fué propuesto por Dubosq y Lebailly en 1912 el nombre genérico de *Spirella*. En 1928 Noguchi aplicó este nombre al microorganismo de la fiebre por mordedura de rata.

Artefactos espiroquetales. Se han cometido muchos errores por los no familiarizados con el aspecto de la sangre, pus y cultivos vistos al ultramicroscopio, identificando como espiroquetas estructuras filamentosas onduladas de origen heterogéneo. Formas de parecido extraordinario a las espiroquetas son producidas por los glóbulos rojos en una gota bajo cubreobjetos (Schultz, 1923). Filamentos de fibrina pueden semejar espiroquetas. Los cilios (May y Goodner, 1926), flagelos bacterianos (Florence, 1921) y diversos tipos de desechos celulares (Nägler, 1912) suelen presentar un aspecto espiroquetal engañoso. Generalmente se pueden distinguir de las espiroquetas por observaciones cuidadosas y repetidas.

BIBLIOGRAFIA

DOBELL, C. *Antony van Leeuwenhoek and His "Little Animals."* New York, 1932, pp. 225 and plate XXIV facing p. 239.
DONNÉ, A. *Recherches microscopiques sur la nature des mucus.* Paris, 1837.
DUBOSQ, O., and LEBAILLY, C. *Compt. rend. Acad. d. sc.*, Paris, 1912, 154:535.
DYAR, M. T. *J. Bacteriol.*, 1947, 54:483.
EHRENBERG, C. G. *Die Infusionsthierchen*, etc., Leipzig, 1838.
FLORENCE, L. *J. Bacteriol.*, 1921, 6:371.
FORD, W. W. *Textbook of Bacteriology.* W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1927, 925.
GAGE, S. H. *The Microscope*, Ithaca, N. Y., 15th ed., 1932.
MAY, H. G., and GOODNER, K. *Tr. Am. Micr. Soc.*, 1926, 45:302.
MUDD, S., POLEVITSKY, K., and ANDERSON, T. F. *Arch. Path.*, 1942, 34:199.
NÄGLER, K. *Centralbl. f. Bakteriol.*, 1912, 65:112.
NOGUCHI, H. *J. Exper. M.*, 1918, 27:575.
——— The Spirochetes, in *The Newer Knowledge of Bacteriology and Immunology*, Chicago, 1928. Chap. XXXVI, pp. 452-497.
OBERMEIER, O. H. F. *Centralbl. f. d. med. Wissensch.*, 1873, 11:145.
SCHAUDINN, F., and HOFFMANN, E. *Arb. a. d. k. Gsndhtsamte.*, 1905, 22:527.
SCHULTZ, E. W. *J. Lab. & Clin. M.*, 1923, 8:2.
SIEDENTOPF. *Ztschr. f. wissensch. Mikr.*, 1908, 25.
SIMONS, H. C. R. *Schweiz. med. Wchnschr.*, 1946, 76:992.
SWELLENGREBEL, N. H. *Ann. d. l'Inst. Pasteur*, 1907, 21:448, 562.
ZINSSER, H., HOPKINS, J. G., and GILBERT, R. *J. Exper. M.*, 1915, 21:213.
——— and HOPKINS, J. G. *J. Bacteriol.*, 1916, 1:489.

CAPITULO XLVI

TREPONEMA PALLIDUM Y SIFILIS

Familia: *Treponemataceae* Schaudinn. Género: *Treponema* Schaudinn. Especie: *Treponema pallidum* (Schaudinn y Hoffmann) Schaudinn

TREPONEMA PALLIDUM Y SIFILIS

La sífilis es una enfermedad infecciosa con manifestaciones variables causadas por una espiroqueta, *Treponema pallidum* (sinónimo *Spirochaeta pallida).* En condiciones naturales, la sífilis se presenta sólo en el hombre y la infección se transmite de un ser humano a otro por contacto directo, generalmente por contacto sexual. Monos, conejos y cobayos pueden ser infectados experimentalmente por inoculación con material de las lesiones sifilíticas del hombre. Otros animales no son susceptibles. En monos o conejos, la enfermedad producida por infección experimental semeja estrechamente a la que se ve en el hombre. Es posible la transmisión por medios indirectos o por objetos, aunque rara. La sífilis es una de las enfermedades infecciosas más importantes y arraigadas (Parran, 1937). Según Vonderlehr y Usilton (1938), la probabilidad para que una persona en Estados Unidos adquiera la sífilis en algún momento de su vida es de 1 a 10. El efecto directo e indirecto de la sífilis sobre la mortalidad ha sido estudiado por Rosahn y Black-Schaffer (1943) y Black-Schaffer y Rosahn (1944).

La sífilis puede evolucionar en el hombre por períodos irregulares y diversos. Los más importantes son:

1. Un período de incubación, de tres a seis semanas.
2. El período primario, o de aparición y evolución del chancro. Esta lesión principia como una pápula en el punto de infección, se agranda, se indura y puede formar una úlcera de base firme y borde duro. En algunos casos, *pero no siempre,* se pueden encontrar espiroquetas en el líquido de expresión del chancro. El exudado de todo chancro debe ser examinado en campo obscuro (fig. 120).
3. El período secundario se caracteriza comúnmente por diversas lesiones cutáneas y mucosas y por complicaciones generales. Los treponemas se pueden encontrar en tales lesiones.
4. El período terciario puede afectar a cualquier parte del cuerpo, pero en particular a los sistemas cardiovascular y nervioso. Las espiroquetas suelen ser pocas y difíciles de encontrar en los cortes de los tejidos enfermos.

Además, hay las formas latentes de sífilis, las sífilis congénitas y fenómenos sifilíticos que simulan toda la gama de trastornos médicos.

La historia médica y social de la sífilis es de lo más interesante, pero no se puede referir aquí en detalle. La enfermedad quizá existió en Europa antes de 1495, como lo indican las recetas de mercúriales para el tratamiento de la *grosse vérole* y *malfranzoso* descubiertas por Sudhoff (Garrison, 1929), que habían sido usadas por los médicos del siglo doce. Después que volvieron a Europa los marineros de Colón, alrededor de 1494, la sífilis se hizo casi epidémica en Europa y fué uno de los grandes azotes de aquellos tiempos. La falta de pruebas convin-

centes de que la sífilis existiera en Europa antes del descubrimiento del Nuevo Mundo, su virulencia y su contagiosidad extrema, hicieron creer que la enfermedad había sido importada de América. Se han investigado cuidadosamente los huesos restos de pueblos primitivos de Centro y Sudamérica para determinar si la sífilis existía o no entre ellos antes que Colón llegase a este hemisferio. Las pruebas de que la sífilis existía en la era precolombiana entre los aborígenes Aztecas e Incas han sido cada vez más numerosas. La cuestión no ha sido decidida, pero el origen de la sífilis en el Nuevo Mundo parece más que probable (Williams, 1932; Pusey, 1933; Holcomb, 1941; Riverius, 1946).

Que la sífilis era contagiosa se hizo rápidamente evidente para quienes la habían contraído y, en los siglos dieciocho y diecinueve John Hunter, Ricord y otros médicos demostraron que la sífilis era infecciosa inoculando hombres con material de úlceras sifilíticas. El conocimiento clínico de las lesiones sifilíticas fué tan altamente desarrollado entre estos médicos que es indudable que reprodujeron la enfermedad de esta manera. Desgraciadamente, no supieron de las otras bacterias patógenas presentes en los exudados de lesiones sifilíticas. En algunos casos reprodujeron infecciones mixtas, así como la sífilis. John Hunter, por ejemplo, en un experimento para determinar si estas dos enfermedades eran distintas, sin un conocimiento exacto, se inoculó a sí mismo con ambas, sífilis y gonorrea. Desde el descubrimiento de la espiroqueta como causa de la sífilis, parte de este trabajo ha sido repetido y en experimentos bien dirigidos se ha producido la sífilis en el hombre con material que contenía *Treponema pallidum* como único organismo visible (Chesney, 1927).



FIG. 120. TREPONEMA PALLIDUM.

Representación esquemática del aspecto de esta espiroqueta por iluminación en campo obscuro, dibujada a escala en comparación con un glóbulo rojo y un leucocito.

En los primeros tiempos de la Bacteriología se describieron numerosas causas de sífilis, desde cocos hasta protozoarios. El descubrimiento que atrajo más la atención fué el de Lustgarten en 1884, quien por un tiempo pareció haber resuelto el misterio. El bacilo de Lustgarten resultó ser un innocuo saprófito ácidorresistente de las mucosas de los genitales normales, que hemos descrito ya en otro lugar como *Mycobacterium smegmatis*.

En 1905, Schaudinn, trabajando en colaboración con Hoffmann, descubrió en los chancros sifilíticos primarios y en los ganglios linfáticos hipertrofiados una espiroqueta parecida a las ya conocidas, pero fácilmente distinguible de ellas. Schaudinn no encontró esta espiroqueta en seres humanos no infectados. Este descubrimiento fué inmediatamente confirmado y todo el trabajo subsiguiente ha ido multiplicando las pruebas de que esta espiroqueta es la causa microbiana de la sífilis. Se ha encontrado en todas las lesiones sifilíticas; se puede producir la enfermedad experimentalmente en animales susceptibles por inoculación con materiales de las lesiones que contienen esta espiroqueta.

A causa de las analogías con un tripanosoma aviario, por el cual Schaudinn se había interesado, y debido a que pensó haber descubierto una membrana ondulante en esta espiroqueta, Schaudinn clasificó el organismo entre los protozoarios y lo denominó *Treponema pallidum*. En el capítulo precedente, nos hemos ocupa-

do de estas cuestiones de taxonomía. Es ahora acuerdo general que ésta y otras espiroquetas están más estrechamente relacionadas con las bacterias que con los protozoarios, si bien en algunos respectos constituyen una clase distinta de microorganismos.

Morfología y tinción. *Treponema pallidum* tiene cuerpo flexible, cilíndrico de 8 a 14 μ de longitud y 0,25 a 0,3 μ de diámetro. Los extremos son puntiagudos, a veces prolongados en delicados filamentos terminales. El cuerpo está enrollado en 8 a 14 espiras agudas, rígidas, regulares, con una amplitud de aproximadamente 1 μ cada una (fig. 120). En las formas muy activas las espiras son algo cambiables. No se ha demostrado con claridad la existencia de un filamento axial; el protoplasma aparece homogéneo. El organismo no tiene ni *cresta*, ni membrana ondulante. Es móvil, pero no progresa rápidamente ni va lejos. Su movimiento es principalmente rotatorio, con algunas ondulaciones groseras. La reproducción es por división transversal generalmente binaria. Puede existir un estado granular. No se encuentran endosporas; el organismo no es filtrable.

El treponema es de forma delicada y difícil de ver, si bien Schaudinn lo descubrió por los métodos usuales de iluminación. Se hace más visible por iluminación en campo obscuro. El método de impregnación argéntica de Fontana-Tribondeau o el de Warthin-Starry lo diferencian netamente. El método de impregnación argéntica de Levaditi es más útil para descubrir el organismo en los tejidos. Las características de los treponemas teñidos por plata se muestran en la figura 121.



FIG. 121. TREPONEMA PALLIDUM.

Fotografía de un corte de hígado con sífilis congénita, teñido por el método de Levaditi.

Treponema pallidum no se puede diferenciar morfológicamente de *T. pertenue* o de las espiroquetas no patógenas de la boca y genitales como *T. microdentium* y *T. mucosum*.

Caracteres de cultivo. Schereschewski (1909) logró cultivar *T. pallidum* en suero coagulado y condiciones anaerobias, pero sus cultivos fueron probablemente contaminados con otros organismos. En 1912, Noguchi aisló cultivos puros de *T. pallidum* en tubos profundos de agar-ascitis, donde se establecieron condiciones de anaerobiosis por la actividad metabólica de un pedacito de riñón fresco de conejo. La naturaleza transitoria de la lesión producida en monos y conejos indicaba, sin embargo, que los treponemas cultivados habían perdido su virulencia. Zinsser y col. (1915) aislaron cierto número de cepas de *T. pallidum* pero todas eran avirulentas y no lograron producir un suero inmune eficaz que protegiera los animales de experimentación contra los treponemas virulentos.

Muchos investigadores, después de los experimentos mencionados, han intentado cultivar *T. pallidum* sobre medios artificiales; algunos han logrado descubrir solamente que los cultivos eran avirulentos (Kast y Kolmer, 1929, 1943; Little y Subbarow, 1945). Aun las formas avirulentas cultivadas requieren suero o líquido de ascitis, tejido fresco y condiciones totalmente anaerobias para la multiplicación. Little y Subbarow (1945) obtuvieron desarrollo temporal en un medio sintético consistente en 0,5 por ciento de Bactoproteosa y una mezcla de siete de las vitaminas del complejo B. Los intentos de cultivo en el embrión de pollo no han tenido éxito (Callaway y Sharp, 1941; Wile y Snow, 1941).

Resistencia. Como las características de los organismos en los cultivos no están bien determinadas, los datos sobre resistencia que vamos a dar se refieren a la espiroqueta en los exudados o tejidos de lesiones sifilíticas.

El *agua destilada* inmoviliza rápidamente y al final causa la fragmentación de los organismos. La *desecación* destruye las espiroquetas. La *saponina* (al 10 por ciento) las inmoviliza y fragmenta en treinta minutos a dos horas.

La resistencia térmica de *Treponema pallidum* fué determinada *in vitro* por Boak, Carpenter y Warren (1932), exponiendo emulsiones de tejido testicular de conejos infectados experimentalmente, que contenían numerosas espiroquetas, a diferentes temperaturas durante períodos de tiempo variables. El material calentado era entonces inyectado en el testículo de conejos y se observaba la capacidad o incapacidad del material para producir lesiones. Se utilizaron las cepas de *Treponema pallidum* de Zinsser-Hopkins y de Nichols. La cepa de Nichols fué algo más resistente. Los tiempos térmicos mortales fueron: cinco horas a 39° C., tres horas a 40° C., dos horas a 41° C., y una hora a 41,5° C. Estas observaciones constituyen una base racional para tratamiento de la sífilis por fiebre provocada, similar a la terapéutica por el paludismo de Wagner-Jauregg (1918) o la hiperpirexia inducida por corrientes eléctricas de alta frecuencia según Carpenter y sus colaboradores (1932) eficaz en la curación de la sífilis experimental en conejos. La espiroqueta pierde rápidamente su viabilidad en productos desecados. En los tejidos puede conservar la viabilidad y la infecciosidad durante días o por más tiempo. Zurhelle y Strempel (1927) encontraron espiroquetas virulentas en tejidos sifilíticos hasta tres días y medio después de obtenidos, y Shaffer (1926) encontró que el material testicular sifilítico de conejo, conservado en frío, era infectante por una semana.

Como *T. pallidum* muere en tres días en la sangre conservada en las neveras de los bancos, hay poco peligro de transmitir la enfermedad por transfusión ordinaria de sangre de banco, si bien puede ser transmitida por sangre fresca.

Las *sulfonamidas* no tienen acción sobre *T. pallidum*. La *estreptomicina* inhibe el desarrollo de los cultivos pero no cura la sífilis experimental del conejo (Fisken y Gruhzit, 1946). La *penicilina* mata los organismos virulentos, tanto en los animales de experimentación como en el hombre y es ahora el agente terapéutico de elección (Frazier y Frieden, 1946; Tung y Frazier, 1946; Kolmer y Rule, 1946; Moore, 1948). La penicilina G cristalizada es el producto más eficaz (Eagle, 1946). Afortunadamente todavía no han aparecido cepas resistentes a la penicilina (Moore, 1948).

Variabilidad, toxicidad y estructura antigénica. Como las cepas de cultivo de *T. pallidum* no son patógenas, podemos suponer que corresponden a las formas R avirulentas de las bacterias.

No se han demostrado ni exotoxinas, ni endotoxinas; la mínima reacción a la infección primaria permite admitir la ausencia de toxinas.

Sin embargo, las lesiones destructivas de la sífilis tardía aparecen análogas a las de la tuberculosis que como se sabe, son resultado de hipersensibilidad (Stokes y col., 1944). Los pacientes con lesiones destructivas suelen dar reacciones cutáneas locales fuertes, 24 a 48 horas después de la inyección intracutánea de "luetina orgánica" que se prepara por extracción de sifilomas maduros de testículos de conejos (Urbach y Beerman, 1947). La luetina orgánica no debe ser confundida con la "luetina de cultivo" de Noguchi, que se prepara de cultivos avirulentos de *T. pallidum*. La última origina reacción no específica y con frecuencia es positiva en individuos no sifilíticos.

Algunos hechos clínicos indican que ciertas cepas de *T. pallidum* son menos virulentas que otras y que algunas son más neurotrópicas que viscerotrópicas. Las pruebas con respecto a la homogeneidad antigénica son contradictorias, ya que conejos curados de una infección con una cepa pueden a veces reinfectarse con otra.

La cuestión no podrá quedar definitivamente resuelta hasta que se encuentre un método para cultivar la espiroqueta en fase virulenta.

Infección experimental en animales de laboratorio. En 1903 Metchnikoff y Roux infectaron un chimpancé hembra con sífilis, inoculando al animal producto obtenido de una lesión humana. Nicolle (1903) infectó un mono *Macacus;* más tarde se supo que todos los monos son sensibles a las infecciones experimentales con *T. pallidum*. La inoculación de monos se logra mejor introduciendo una pequeña porción de tejido sifilítico humano en una bolsa subepidérmica.

Bertarelli transfirió la enfermedad a los conejos en 1906. Desde entonces el conejo ha sido usado extensamente en la investigación experimental de la sífilis. La inoculación intratesticular de una emulsión de tejido sifilítico humano o de la raspadura de un chancro suele producir la infección en los conejos, si bien no todas las inoculaciones *prenden*. Los conejos así inoculados desarrollan en unos quince días induración de los testículos, que aumenta hasta la sexta o séptima semana; el órgano aparece hinchado, duro y nodular. La piel, sobre el punto de la inoculación o allí donde se introdujeron espiroquetas, se ulcera y adquiere las características de un chancro. Brown y Pearce (1921) lograron producir en conejos casi todos los tipos de sífilis por métodos apropiados de inoculación. Magnuson y sus colaboradores (1948) han comprobado que se requieren solamente dos treponemas virulentos para iniciar una infección experimental en el conejo.

Kolle y Evers (1926) demostraron que los cobayos son sensibles a la infección experimental, pero estos animales no han sido utilizados extensamente en investigaciones de sífilis.

La transmisión de la sífilis a las llamas en el Perú, referida por Jáuregui y Lanreotti en 1924, no ha sido confirmada.

Las propiedades patógenas de la espiroqueta se modifican poco por el paso a través de animales. No se ha observado aumento considerable de la virulencia para conejos de cepas pasadas a través de estos animales. Es sabido que la cepa de Nichols presenta propiedades neurotrópicas. Chesney resumió las pruebas de que la espiroqueta no llegaba a atenuarse por su paso en conejos y citó infecciones accidentales de personal de laboratorio como prueba de que las espiroquetas de las lesiones del conejo son patógenas para el hombre (Graetz y Delbanco, 1914; Gahylle, 1924).

Las ratas y ratones desarrollan infecciones asintomáticas cuando son inoculados. No se pueden encontrar lesiones en los órganos donde se inició la infección, aunque las espiroquetas permanecen en el cuerpo durante semanas o meses. Los perros, cabras, zorras, ovejas, venados, ardillas, hurones y marmotas son completamente resistentes.

Tipos clínicos de infección en el hombre. Hay muchas analogías entre la sífilis y la tuberculosis, aunque una está causada por una espiroqueta y la otra por una bacteria. Ambas enfermedades son extremadamente difíciles de curar, variables en sus manifestaciones y crónicas. *T. pallidum* aun más que *Myco. tuberculosis* se aproxima a la condición de parasitismo ideal en el cual el organismo invasor vive en el huésped y produce reacción mínima o nula. La espiroqueta de la sífilis tiene ventaja sobre el bacilo de la tuberculosis por la forma como se transmite. Las lesiones primarias de la sífilis son superficiales y altamente infectantes; las lesiones destructivas tardías no son infectantes y por tanto de poco valor para el parásito.

Las lesiones primarias aparecen en los genitales en 95 por ciento de los casos y en la boca o en el pezón en la mayor parte del 5 por ciento restante. El *período de incubación* varía de 10 a 90 días, con promedio de tres semanas. Durante el

período de incubación no sólo los organismos se multiplican localmente, sino que también invaden los linfáticos y la corriente sanguínea y se distribuyen ampliamente por todo el cuerpo antes que aparezca la lesión local. El paciente puede ser *infectante por contacto* aun antes de presentar una lesión local reconocible. Frazier y Pian (1939) han señalado la transmisión accidental de la sífilis por una transfusión en la cual la sangre se extrajo de un donador que se hallaba en período de incubación de la enfermedad.

La lesión primaria local, típica, es circunscrita, indurada, ulcerada y superficialmente pobre en vasos e indolora. Se le llama con frecuencia *chancro hunteriano* en honor de John Hunter o *chancro duro* para distinguirlo del chancroide (chancro blando) causado por *H. ducreyi*. La lesión primaria, por desgracia, no siempre es característica o perceptible; puede ser tan insignificante que pase inadvertida para el paciente. Así, en la mujer, el chancro puede estar localizado en el cuello del útero; en el hombre, en la uretra, donde no puede verse por inspección. En los conejos se han producido infecciones sin lesiones locales observables; probablemente también en el hombre ocurren infecciones similares (Moore, 1944). Los ganglios linfáticos regionales suelen estar abultados, duros, y de consistencia de caucho. El diagnóstico clínico de sífilis primaria debe confirmarse siempre por la demostración de las espiroquetas en la secreción de la lesión (fig. 122). Es de la mayor importancia que el producto sea examinado antes de administrar arsenicales o penicilina, porque los treponemas suelen desaparecer de la lesión local 6 a 24 horas después de comenzar el tratamiento.

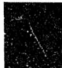


FIG. 122. TREPONEMA PALLIDUM.

Fotografía de una preparación de chancro con tinta china.

Durante el período de incubación de la enfermedad, o aun durante los primeros días después de la aparición del chancro, no se descubren anticuerpos. Generalmente dentro de los diez días y siempre dentro de los treinta que siguen a la aparición del chancro, se puede descubrir en el suero un anticuerpo con cualquiera de las reacciones serológicas para la sífilis. Muchos sifiliógrafos prefieren hablar de estas substancias reactivas como *reaginas*, más bien que anticuerpos, puesto que no protegen a los animales contra las infecciones experimentales. Por lo tanto, son indicación de infección más bien que de inmunidad y deben interpretarse así.

La lesión primaria cura invariablemente, aun sin tratamiento, en diez a cuarenta días. El mecanismo por el cual son destruídas las espiroquetas en la lesión local no se conoce, pero se supone que sea del tipo de inmunidad tisular local más bien que de inmunidad humoral, ya que simultáneamente con la desaparición de las espiroquetas en la lesión local ocurre una multiplicación sin freno del microorganismo en la piel y en las mucosas, preparatoria del comienzo explosivo de las *lesiones secundarias*.

Después que ha curado la lesión primaria, el paciente queda libre de síntomas por un período que varía de 2 a 6 meses, con un promedio de tres antes que aparezcan las *lesiones secundarias múltiples* en la piel, en las mucosas o en ambas. Con frecuencia las manifestaciones secundarias aparecen mientras cura la lesión primaria. Al mismo tiempo el paciente puede presentar algunos síntomas generales, como fiebre, dolor de cabeza y malestar, pero son mínimos en relación con la multiplicidad de lesiones y el número enorme de espiroquetas presentes en cada región lesionada. Por lo general, en este tiempo hay abultamiento generalizado de los ganglios linfáticos. También desaparecen las lesiones sin tratamiento y con mínima formación de cicatrices después de tres semanas a tres meses, pero pueden recidi-

var después de un período de latencia de 3 a 12 meses. En algunos casos los períodos de latencia alternan con las recurrencias durante largo tiempo, hasta cuatro años, si bien las fases de latencia se van alargando y las recurrencias se acortan. Después de unos cuatro años el paciente entra en el *período de latencia tardía*, en el cual las recurrencias cutáneas mucosas no aparecen más. Durante el período de recurrencia secundaria las reacciones serológicas de sífilis prácticamente siempre son positivas.

En muchos pacientes las manifestaciones secundarias son tan insignificantes que no se reconocen. La experiencia clínica parece demostrar que los pacientes que presentaron lesiones secundarias intensas, desarrollan menos comúnmente lesiones terciarias y, a la inversa, las lesiones destructivas tardías de la sífilis ocurren con mayor frecuencia en aquellos que han tenido muy pocas o ninguna manifestación secundaria de la enfermedad. La *sífilis meningovascular*, en particular las formas meníngeas, no es raro que aparezcan durante la fase secundaria.

Los *sistemas cardiovascular* y *nervioso* son afectados con la mayor frecuencia en las manifestaciones tardías de la enfermedad; la mayor parte de las muertes atribuídas a la sífilis se observan en pacientes que han sufrido de invasión de uno o ambos sistemas. Las lesiones de estos sistemas son indoloras, lentamente progresivas y no causan reacción violenta de los tejidos. Esto se ha descrito algunas veces como *tipo anérgico* de reacción.

En otros pacientes, en los períodos tardíos de la sífilis, aparecen masas granulomatosas, destructivas, tumorales, conocidas como *gomas*, en *piel*, *huesos*, *sistema nervioso*, y ocasionalmente en otros órganos y tejidos. Aunque en realidad son de evolución muy lenta y requieren semanas o meses, resulta rápida si se compara con la evolución más lenta todavía de la enfermedad en los sistemas cardiovascular y nervioso. La naturaleza destructiva del goma se atribuye a la aparición de *hipersensibilidad* a las espiroquetas aunque no se sabe por qué se desarrolla repentinamente esta hipersensibilidad a las espiroquetas con las cuales ha estado viviendo en paz durante años. Se ha sugerido que interviene un factor constitucional; ciertos individuos heredan la capacidad de reaccionar de esta manera, otros no (Fleming y Moore, 1941). Durante el período de latencia tardía de la sífilis, las reacciones serológicas suelen ser positivas únicamente en el 60 a 70 por ciento de los pacientes. El líquido céfalorraquídeo a veces es positivo cuando el suero sanguíneo es negativo, pero puede ser negativo en el cinco al 10 por ciento de casos clínicos de parálisis general y en el 30 por ciento de casos clínicos de *tabes dorsal*.

En un número sorprendente de casos, la naturaleza logra finalmente la *curación*. En la serie de Bruusgaard, de 2 181 casos no tratados, en Oslo, Noruega, no menos del 64,6 por ciento pasaron todo el curso de su enfermedad sin tener molestias internas, y el 27,9 por ciento *curaron, si no biológicamente, sintomáticamente* (Bruusgaard, 1929).

Inmunidad adquirida. La naturaleza de la inmunidad adquirida en la sífilis es aún un misterio. La mayor parte de los sifiliógrafos suponen que se trata de una inmunidad local celular o de tejido, y que los anticuerpos humorales contribuyen poco o nada al restablecimiento. De hecho, la existencia de anticuerpos para *T. pallidum* fué negada hasta que Turner (1939) demostró por pruebas de protección de animales su presencia en ellos y en el hombre. Debe señalarse, sin embargo, que estos anticuerpos protectores son enteramente independientes de las substancias de la sangre que dan positivas las reacciones serológicas de la sífilis.

La inmunidad para la sífilis como para la tuberculosis es de aparición lenta y de un tipo relativo, no absoluto. Es más eficaz para impedir la entrada de nuevos

treponemas que para suprimir aquellos que ya están presentes en los tejidos. Hace muchos años se observó que la *superinfección* del hombre o de los animales, después de la curación espontánea del chancro primario, no origina chancro, sino un tipo de lesión característica de la fase evolutiva particular de la infección original, por ejemplo, pápula secundaria o goma (Urbach y Beerman, 1947).

Son dos las teorías que intentan explicar los hechos observados en la inmunidad para la sífilis. Neisser (1911), Kolle y Prigge (1934) y sus continuadores sostienen que la inmunidad a la reinfección sólo se mantiene mientras quedan treponemas vivos en los tejidos. Chesney (1927) y sus colaboradores han presentado pruebas convincentes de que por lo menos en animales acaba por aparecer una inmunidad sólida definitiva para la reinfección, aun después de la eliminación completa de las espiroquetas. Ambas teorías, sin embargo, coinciden en que cuando un animal o un hombre es tratado precoz y vigorosamente, las espiroquetas pueden ser eliminadas por completo antes de que haya habido tiempo para el desarrollo de inmunidad. En tales condiciones, se puede producir una nueva infección primaria. Este punto es hoy de especial importancia a causa del uso extendido de la penicilina, que parece igualmente eficaz, o más aun, que los arsenicales o metales pesados para eliminar totalmente los treponemas de los tejidos en las primeras fases de la infección.

Sífilis congénita. El embarazo puede modificar la inmunidad de la mujer con sífilis latente, que resulta en la movilización de los treponemas y su paso a través de la placenta hasta el embrión *in utero*. La mujer embarazada también transmite las substancias reactivas que dan positivas las reacciones serológicas para la sífilis, pero no transmite anticuerpos protectores, o sólo cantidades insuficientes para prevenir el desarrollo de enormes números de espiroquetas en los tejidos del niño antes del nacimiento. Algunos de los niños mueren *in utero* y son expelidos como *abortos;* otros nacen *muertos.* El niño que vive puede mostrar manifestaciones evidentes de sífilis al tiempo de nacer, o presentar signos de sífilis durante las primeras semanas o meses de la vida. En algunos casos las manifestaciones de sífilis congénita son tardías en la infancia, cuando el paciente puede presentar *dientes de Hutchinson, queratitis intersticial, sordera por lesión del octavo par, nariz en silla de montar, tibias en sable* y otras manifestaciones.

Si la madre ha recibido tratamiento adecuado durante el embarazo, el niño puede nacer libre de sífilis, aun cuando la madre tenga reacciones serológicas positivas, así como la sangre del cordón *umbilical.* Cuando el niño es aparentemente sano, se aconseja aplazar el tratamiento durante unas semanas, o hasta que una serie de reacciones serológicas cuantitativas demuestre que las pruebas siguen siendo positivas o que disminuyen gradualmente. En el último caso, las reacciones positivas se debieron a substancias reactivas transferidas pasivamente al niño y el tratamiento específico no está indicado. Se ha estimado que alrededor del uno al dos por ciento del total de niños nacidos en la actualidad, en los Estados Unidos, tienen sífilis congénita.

Pruebas serológicas para la sífilis. La evolución de las pruebas serológicas para la sífilis, es uno de los temas más interesantes en el campo de la inmunología. En 1906, Wassermann aplicó el principio de fijación del complemento de Bordet al diagnóstico de la sífilis. Incapaz de cultivar *T. pallidum* utilizó como antígeno extractos de hígado de niño sifilítico nacido muerto, que contenían gran número de espiroquetas. Posteriormente, cuando se agotó el suministro de niños nacidos muertos se supo que los extractos de bazo normal y de otros órganos podían substituir al antígeno original. Durante muchos años se ha usado como antígeno para

la reacción de fijación del complemento un extracto alcohólico de corazón de buey. Posteriormente fueron introducidas como suplementos o sustitutos de la reacción original de Wassermann un grupo de las llamadas pruebas de floculación y de precipitación, como las de *Kline, Kahn, Mazzini* y *Eagle*. Fué algo desconcertante para el inmunólogo comprobar que una sustancia lipoidea no específica del corazón de una vaca normal podía actuar como antígeno específico en la reacción de fijación del complemento para la sífilis. Una explicación de esta anomalía la suministró el trabajo de Gaehtgens (1929) y Eagle y Hogan (1940) quienes encontraron que los cultivos de la cepa Reiter de *T. pallidum* podían actuar como antígeno específico comprobando la presencia en la espiroqueta de una fracción lipoidea que, por casualidad, es muy similar, si no idéntica, al extracto del músculo cardíaco de la vaca.

Las reacciones serológicas para la sífilis no establecen o excluyen automáticamente el diagnóstico de sífilis; siempre deben estimarse en relación con los datos clínicos. En la mayor parte de los laboratorios se practican una serie de reacciones de precipitación, como las de Kahn, Kline y Mazzini, ya que en un paciente determinado una de las reacciones puede ser positiva mientras que las otras son negativas. Las reacciones serológicas cuantitativas para la sífilis deben ser efectuadas sistemáticamente en aquellos pacientes que reciben terapéutica activa, de modo que la rapidez de disminución de los anticuerpos puede ser útil para el clínico que está tratando el caso. El *antígeno de cardiolipina* parece más específico que cualquiera de los tipos de antígenos más antiguos; pronto se usará exclusivamente tanto para las reacciones de fijación del complemento como para las de precipitación (Hecht, 1945; Kline, 1946).

Reacciones biológicas positivas falsas en la sífilis. Diversas enfermedades u otros estados febriles distintos de la sífilis pueden originar reacciones serológicas positivas de sífilis. Entre las más comunes están las infecciones respiratorias, la vacuna de la viruela, la mononucleosis infecciosa y las infecciones por virus del sarampión, neumonía atípica y linfogranuloma venéreo. Causas menos frecuentes en Estados Unidos son el paludismo, la lepra y, en grado menor, la fiebre tifoidea, la filariasis y la enfermedad de Weil (Davis, 1944; Beerman, 1946; Rein y Elsberg, 1944; Mohr y col., 1941a). Con excepción de la lepra las reacciones serológicas en estas enfermedades son transitorias, y vuelven a ser negativas en un período de días, semanas o meses. La serología positiva en otras treponematosis, p. ej., bejel, pian y pinto, son reacciones biológicas verdaderas, no falsas. Se han observado reacciones biológicas positivas falsas de sífilis más persistentes en individuos normales aparentemente sanos, sin historia ni manifestaciones clínicas de sífilis, ni episodio febril reciente que puede haber producido una reacción biológica positiva falsa (Mohr y col., 1941b). Este grupo de individuos plantea un problema diagnóstico muy difícil, puesto que la sífilis asintomática nunca puede ser excluída definitivamente y una vez que se ha instituído una terapéutica antisifilítica, el cuadro serológico del paciente se hace obscuro.

De tiempo en tiempo se han propuesto diversos métodos serológicos empíricos (para una revisión, véase Moore y col., 1940; Davis, 1944; Beerman, 1945; Neurath y col., 1947a) para distinguir las reacciones biológicas positivas verdaderas de la sífilis, de las falsas. Un estudio más reciente de la evaluación crítica de diversos de estos métodos no ha demostrado su validez (Scott y col., 1945).

Una investigación inmunológica y química sistemática ha sido llevada a cabo por Neurath, Volkin, Craig y colaboradores (Neurath y col., 1947a, b) con miras a establecer las diferencias inmunológicas entre los anticuerpos de los sueros sifilí-

ticos y los de los sueros que dan reacciones biológicas positivas falsas. Las principales etapas del procedimiento experimental desarrollado por estos investigadores se puede describir en forma condensada como sigue:

Se aísla una primera fracción proteínica del suero de prueba por precipitación isoeléctrica. Esta fracción *euglobulina* sólo comprende el 7 por ciento de las seroproteínas totales (o el 13 por ciento de las globulinas *gamma)*, pero contiene el 50 por ciento o más del total de anticuerpos reactivos. De otra fracción proteínica del suero humano se ha aislado una substancia que inhibe específicamente las reacciones serológicas de floculación del tipo biológico de la positiva falsa. Esta fracción parece ser una lipoproteína asociada con las globulinas *alfa* de los sueros humanos. La fracción *euglobulina* serológicamente activa se somete a titulaciones cuantitativas (pruebas de floculación) y otra parte alícuota de esta fracción *euglobulina* se titula en presencia de cantidades determinadas del inhibidor. Se dice que se obtiene una reacción de tipo sifilítico cuando el inhibidor no suprime la actividad de la fracción *euglobulina;* al paso que la inhibición completa en presencia del inhibidor es característica de una reacción biológica positiva falsa. Este procedimiento de inhibición es específico cuando se emplean antígenos de alta sensibilidad como la cardiolipina.

Por el momento este método está aún en el período experimental y no se ha recomendado todavía para empleo sistemático. Un estudio analítico experimental ha revelado, sin embargo, que en el 95 por ciento de todos los sueros sifilíticos conocidos que han sido estudiados, independientemente del título, período de la enfermedad y terapéutica anterior, se obtiene reacción de tipo sifilítico (Neurath y col., 1947). De manera análoga, en casi el 95 por ciento de los sueros positivos falsos conocidos (incluyendo los producidos por paludismo, infecciones de vías respiratorias superiores, lepra, etc.), los autores han obtenido una reacción biológica positiva falsa. La evaluación final de la validez de esta reacción de "inhibición de globulina" debe quedar pendiente de nuevos estudios. Con todo, los resultados publicados justifican una actitud optimista.

Transmisión. *Treponema pallidum* es un parásito estricto al que parecen ser sensibles todas las razas humanas, si bien hay diferencias raciales e individuales en la reacción al organismo. Casi todas las infecciones sifilíticas son adquiridas por contacto sexual, beso o prácticas sexuales anormales, quedando solamente el 0,01 por ciento para las verdaderas infecciones accidentales por contactos en el hogar, vasos de bebida, utensilios de comer, vestidos, sábanas, barberías y salones de belleza (Moore, 1944). La sífilis puede ser considerada como una enfermedad profesional para enfermeras, parteras, dentistas y médicos.

La campaña contra la sífilis que se lleva a cabo con ritmo acelerado desde los últimos 30 años está produciendo resultados. Una publicación del departamento de estadística de la Cía. Metropolitana de Seguros de Vida muestra en sus asegurados una disminución de muertes atribuibles a sífilis, desde un máximo de 19,1 por 100 000 en 1917 a 5,1 en 1945 *(J.A.M.A.*, 1947).

La sífilis es aún muy frecuente como lo demuestra la experiencia del servicio de selección del ejército de EE. UU. durante la segunda Guerra Mundial. Se encontraron reacciones serológicas positivas de sífilis en el 4,53 por ciento de los primeros 1 895 778 hombres examinados. Se observaron las diferencias más notables entre blancos y negros; la proporción fué en los negros de 25,23 por ciento y en los blancos de sólo 1,74 por ciento. Los blancos que vivían en zonas donde había una gran población de negros tenían un porcentaje considerablemente más alto que el medio de todos los blancos (Vonderlehr y Usilton, 1942). El servicio de Sanidad Pública de EE. UU. calcula 500 000 casos nuevos de infección cada año en dicho país.

Tratamiento. Los llamados sueros inmunes y de convaleciente son ineficaces en el tratamiento de la sífilis.

El tratamiento empírico original de la sífilis con pomadas mercuriales fué, en un tiempo, reemplazado por el "proyectil mágico" de Ehrlich, "606" o salvarsán (arsfenamina). Sin embargo, después de algunos años se descubrió que las espiroquetas no eran eliminadas por completo del organismo, por una, dos ni aun una larga serie de inyecciones. Se supuso que las espiroquetas se hacían resistentes al arsénico o "arsenorresistentes" (Beerman, 1936), pero los estudios más completos indican que las cepas verdaderamente arsenorresistentes son relativamente raras. El bismuto es tan eficaz o más que el mercurio como treponemicida. Hasta 1944 el tratamiento tipo de la sífilis consiste en series alternas de arsenicales y metales pesados. La neoarsfenamina (neosalvarsán), el mafarsen, la arsfenamina antigua (salvarsán), etc., en el orden citado, son los arsenicales de elección. El subsalicilato parece ser el más eficaz de los compuestos de bismuto.

Hasta el descubrimiento reciente de la acción espiroqueticida de la penicilina por Mahoney y colaboradores, en 1943, sistemáticamente se empleaban series prolongadas de tratamiento hasta de dieciocho meses.

La *terapéutica por la penicilina* se halla aún en evolución. Los resultados de los estudios de los grupos cooperativos en diversas partes de Estados Unidos han sido resumidos en la publicación de Moore y colaboradores (1948). La penicilina es mucho más innocua y parece dar resultados iguales o mejores que la antigua terapéutica por arsenicales y metales pesados. Ocurren, sin embargo, al comienzo del tratamiento por la penicilina *reacciones de Jarisch-Herxheimer* más frecuentes y graves. Este fenómeno se cree una reacción alérgica precipitada por la liberación repentina del antígeno de las espiroquetas destruídas por la penicilina. Tales reacciones pueden ser mortales cuando ocurren en pacientes con sífilis de los sistemas cardiovasculares o nervioso central (Callaway y col., 1946). Por lo tanto, el tratamiento preliminar con bismuto es aconsejable antes de administrar penicilina.

Prevención. Todos los intentos de inmunización activa con cultivos muertos o atenuados de *Treponema pallidum* han fracasado.

La sífilis congénita puede ser eliminada completamente por el tratamiento adecuado de la madre durante el embarazo, con arsenicales o de preferencia con penicilina.

La prevención de la sífilis adquirida sigue siendo un problema básico de educación, suplementado por un esfuerzo constante, sin descanso, para diagnosticar, aislar y tratar hasta hacerlo no infectante todo nuevo caso de sífilis adquirido.

BEJEL, PIAN Y PINTO

Es difícil determinar el parentesco entre sífilis, bejel, pian y pinto, pero los datos clínicos anatomopatológicos y biológicos indican que todos estos procesos son causados por organismos pertenecientes a la misma familia. Algunos investigadores creen que los tres últimos son formas atenuadas de sífilis, mientras otros consideran que los cuatro microorganismos evolucionaron independientemente a partir de un antecesor común saprófito.

Estas tres espiroquetas están estrictamente limitadas a zonas geográficas específicas. El *bejel* se encuentra en Arabia, entre los beduinos; el *pian* o *frambesia tropica* ocurre exclusivamente en los trópicos; mientras que el *pinto* es endógeno de México, Cuba e Islas de las Indias Occidentales, América del Centro y países tropicales de América del Sur.

Ni el bejel ni el pian ni el pinto se pueden clasificar como enfermedades venéreas. El bejel y el pian ocurren primitivamente en niños, pero el pinto ataca a personas de todas las edades.

Los treponemas encontrados en las lesiones son morfológicamente idénticos a *T. pallidum;* aunque ninguno de ellos ha sido cultivado, todos pueden infectar a los conejos. Se obtienen reacciones serológicas positivas empleando el suero del paciente y el antígeno comúnmente usado para descubrir la sífilis, aunque en el pinto la aparición de estas substancias reactivas es tardía. En la mayor parte de los casos de pinto las reacciones son negativas durante el primer período, positivas en el 50 por ciento de los pacientes con lesiones secundarias y casi siempre positivas en las manifestaciones tardías de la infección.

Bejel. Esta enfermedad es la más difícil de diferenciar de la sífilis; por lo menos algún investigador cree que es una forma rara de sífilis congénita (Butler, 1939). Una treponematosis no venérea similar, si no idéntica, ha sido observada en la India (Iswariah y Nair, 1938).

Las placas mucosas son muy comunes en el bejel (Hudson, 1936-38); con cierta frecuencia se producen lesiones cardiovasculares (Hoff y Shaby, 1940); pero la participación del sistema nervioso central es rara.

Pian. Castellani descubrió el agente etiológico del pian en 1905 y lo denominó *Treponema pertenue.* Tanto las lesiones primarias como las secundarias del pian son más graves y persistentes que las de la sífilis; en contraste con ella, en el pian hay formación de cicatriz en el sitio de la infección secundaria; las lesiones son granulomatosas o verrugosas, con superficie granular que simula la de una fresa, de ahí el nombre de "frambesia". El aspecto general de las lesiones de la piel es muy diferente del de la sífilis, si bien a veces pueden parecer idénticas. En un 15 por ciento de los casos aparecen zonas destructivas en los huesos, pero las manifestaciones cardiovasculares y neurológicas son raras (Helfet, 1944). Los períodos de latencia alternando con las recrudescencias son tan característicos del pian como de la sífilis. Se ha comprobado que hay inmunidad recíproca parcial e incompleta entre el pian y la sífilis (Turner, 1947).

Pinto. Esta enfermedad está causada por el *T. carateum* de Brumpt *(Treponema herrejoni* de León y Blanco). La lesión primaria es una placa eritematosa, escamosa, no ulcerada, de la piel; después de cuatro a cinco meses, puede tomar aspecto liquenoide o psoriasiforme. Después de un período de latencia de 4 ó 5 meses aparecen las lesiones secundarias alrededor de la lesión inicial y sobre la piel de otras partes del cuerpo, como las palmas de las manos y las plantas de los pies. Así, pues, el pinto semeja al pian en tener predilección por las superficies palmares del cuerpo, pero no por las mucosas (Pardo-Castelló y Ferrer, 1942). Algunas zonas de la piel están despigmentadas, otras están hiperpigmentadas y muchas llegan a tener color rosado, moreno o azul. Estas placas diversamente coloreadas explican el nombre de pinto que se ha dado a la enfermedad. No se han observado lesiones en los huesos, pero sí del sistema cardiovascular (Pardo-Castelló y Ferrer, 1942). No se ha observado inmunidad cruzada entre la sífilis y el pinto; se han infectado experimentalmente pacientes sifilíticos con treponema del pinto (León y Blanco, 1940; Holcolmb, 1942).

Transmisión. En las tres enfermedades se encuentran numerosos treponemas tanto en las lesiones primarias como en las secundarias y la transmisión suele tener lugar por contacto directo. La mosca *Hippelates pallipes,* puede transmitir *T. pertenue* de una llaga de la piel de un paciente a una erosión en el lomo o en el testículo de un conejo (Turner, 1947). *T. pertenue* sobrevive durante cuatro horas

e incluso puede multiplicarse en el divertículo de la mosca (Kumm, 1935). También se ha atribuído a dípteros del género *Simulium* la transmisión del pinto, pero ello no está completamente probado.

Tratamiento. Las tres enfermedades responden rápidamente al tratamiento con arsenicales. La terapéutica con penicilina cura las lesiones primarias y secundarias del pian aun más rápidamente que los arsenicales (Hill y col., 1946; Stubenbord, 1946; Dwindelle y col., 1946). Cabe suponer que la penicilina será también eficaz en el tratamiento del bejel y del pinto.

Prevención. El diagnóstico precoz, el aislamiento y el tratamiento con arsenicales o penicilina habrá de reducir considerablemente la frecuencia del bejel, el pian y el pinto.

ESPIROQUETOSIS VENEREAS DE LOS CONEJOS

La presencia de una espiroqueta idéntica a *Treponema pallidum* en una enfermedad venérea natural de los conejos fué comunicada por Ross en 1912 y Bayon en 1913. El organismo es morfológicamente idéntico a la espiroqueta de la sífilis y fué denominado *Treponema cuniculi* por Noguchi, en 1928.

Las lesiones producidas por este microorganismo en el conejo son áreas escamosas ligeramente elevadas, superficiales, no induradas, alrededor de los genitales (Warthin, 1922). Este microorganismo no tiene el poder invasor de *Treponema pallidum* y no produce infección generalizada. Su presencia en animales utilizados para trabajos experimentales de sífilis puede crear confusión si los exámenes se limitan a la morfología. Los conejos con espiroquetosis venérea natural no dan reacción de Wassermann positiva (Kolle y col., 1921; Turner, 1936).

BIBLIOGRAFIA

Bayon, H. *Brit. M. J.*, 1913, 2:1159.
Beerman, H. *Am. J. Syph. Gon. & Ven. Dis.*, 1936, 20:165, 296.
——— *Am. J. Med. Sci.*, 1945, 209:525; 210:524.
——— *Am. J. Syph. Gon. & Ven. Dis.*, 1946, 30:173.
Bertarelli, E. *Centralbl. f. Bakteriol.*, 1906, 41:320.
Black-Schaffer, B., and Rosahn, P. D. *Am. J. Syph., Gon. & Ven. Dis.*, 1944, 28:27.
Boak, R. A., Carpenter, C. M., and Warren, S. L. *J. Exper. M.*, 1932, 56:741.
Brown, W., and Pearce, L. *J. Exper. M.*, 1921, 33.
Bruusgaard, E. *Arch. f. Dermat. u. Syph.*, 1929, 157:309.
Butler, C. S. *Am. J. Clin. Path.*, 1939, 9:1.
Callaway, J. L., and Sharp, J. *J. Lab. & Clin. Med.*, 1941, 27:232.
——— Noojin, R. O., Flower, A. H., Kuhn, B. H., and Riley, K. A. *Am. J. Syph., Gon & Ven. Dis.*, 1946, 30:110.
Carpenter, C. M., Boak, R. A., and Warren, S. L. *J. Exper. M.*, 1932, 56:751.
Castellani, A. *Brit. M. J.*, 1905, 2:1280.
——— *J. Hyg.*, 1907, 7:558.
Chapman, M. P. *North. Am. Vet.*, 1947, 28:740.
Chesney, A. M. Immunity in Syphilis, *Medicine*, 1926, 5:463; publicado también en Medical Monographs, Vol. VII, Baltimore, 1927.
——— *Medicine*, 1926, 5:463.
——— *Am. J. Syph., Gon. & Ven. Dis.*, 1930, 14:289.
——— *South. Med. J.*, 1936, 29:1230.
Davis, B. D. *Medicine*, 1944, 23:359.
Dwindelle, J. H., Rein, C. R., Sternberg, T. H., and Sheldon, A. J. *Am. J. Trop. Med.*, 1946, 26:311.
Eagle, H. *J. Bacteriol.*, 1946, 52:81.
——— and Hogan, R. B. *J. Exper. M.*, 1940, 71:215.
Erickson, J. O., Volkin, E., Craig, H. W., Cooper, G. R., and Neurath, H. *Am. J. Syph., Gon. & Ven. Dis.*, 1947, 31:374.
Fisken, R. A., and Gruhzit, O. M. *Am. J. Syph., Gon. & Ven. Dis.*, 1946, 30:581.
Fleming, W. L., and Moore, J. E. *Am. J. Med. Sci.*, 1941, 202:38.

Frazier, C. N., and Pian, H. C. *Chinese Med. J.*, 1939, 56:441.
——— and Frieden, E. H. *J.A.M.A.*, 1946, 130:677.
Gaehtgens, W. *Med. Klin.*, 1929, 25:390.
Gahylle, E. *Compt. rend. Soc. de Biol.*, 1924, 91:911.
Garrison, F. H. *An Introduction to the History of Medicine*, Philadelphia, 4th ed., 1929, pp. 189-192, con una revisión de las investigaciones históricas de Sudhoff.
Graetz, F., and Delbanco, E. *Med. Klin.*, 1914, 375.
Hampp, E. G. *J. Am. Dental Ass.*, 1947, 34:606.
Hecht, H. *J. Lab. & Clin. Med.*, 1945, 30:992.
Helfet, A. J. *J. Bone and Joint Surg.*, 1944, 26:672.
Hill, K. R., Findlay, G. M., and MacPherson, A. *Lancet*, 1946, 2:522.
Hoff, H., and Shaby, J. A. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.*, 1940, 33:549.
Holcolmb, R. C. *Bull. Hist. Med.*, 1941, 10:148.
——— *U. S. Naval Med. Bull.*, 1942, 40:517.
Hudson, E. H. *Arch. Dermat. & Syph.*, 1936, 33:994.
——— *Am. J. Trop. Med.*, 1938, 18:675.
Iswariah and Nair. *J. Indian Med. Ass.*, 1938, 7:651.
Jáuregui, F., and Lanceoti, L. *Bull. Acad. d. méd.*, 1924, 92. (Citado por Chesney.)
Kahn, R. L. *The Kahn Test, A Practical Guide*, Baltimore, 1928.
——— Reports of Laboratory Conferences on Serodiagnosis of Syphilis, League of Nations Health Organization, 1928 and 1931.
Kast, C. C., and Kolmer, J. A. *Am. J. Syph.*, 1929, 13:417.
——— and Kolmer, T. A. *Am. J. Syph., Gon. & Ven. Dis.*, 1943, 27:309.
Kline, B. S. *Am. J. Clin. Path.*, 1946, 16:68.
Kolle, W., and Evers, E. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1926, 53:1075.
———, Ruppert, F., and Möbus, T. *Arch. f. Dermat. u. Syph.*, 1921, 135:260. (Citado por Chesney.)
——— and Prigge, R. *Med. Klin.*, 1934, 30:46.
Kolmer, J. A. *Practical Textbook of Infection, Immunity and Biologic Therapy*, Philadelphia, 1923.
Kolmer, J. A., and Boerner, F. *Approved Laboratory Technic*, New York, 2nd ed., 1938.
——— and Rule, A. M. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1946, 63:240.
Kumm. Rept. of Jamaica Yaws Commission, 1935.
León y Blanco, F. *Rev. de med. trop. y parasitol., bacteriol., Clin. y lab.*, 1940, 6:13.
Little, P. A., and Subbarrow, Y. *J. Immunol.*, 1945, 50:213.
Lustgarten, S. *Wien. med. Wchnschr.*, 1884, 34:1389.
McLeod, C., and Turner, T. B. *Am. J. Syph., Gon. & Ven. Dis.*, 1946, 30:442, 455.
Magnuson, H. J., Eagle, H., and Fleischman, R. *Am. J. Syph., Gon. & Ven. Dis.*, 1948, 32:1.
Mahoney, J. F., Arnold, R. C., and Harris, A. *Ven. Dis. Inform.*, 1943, 24:355.
Metchnikoff, E., and Roux, E. *Ann. d. l'Inst. Pasteur*, 1903, 1904, 1905.
Mohr, C. F., Moore, J. E., and Eagle, H. *Arch. Int. Med.*, 1941a, 68:1161.
——— *Arch. Int. Med.*, 1941b, 68:898.
Moore, J. E. *Modern Treatment of Syphilis*, 2nd ed., Charles C. Thomas, Springfield, Ill., 1944.
——— *J.A.M.A.*, 1948 (en prensa).
———, Eagle, H., and Mohr, C. F. *J.A.M.A.*, 1940, 115:1602.
Neisser, A. *Beidroge zur Pathologie und Therapie der Syphilis*, J. Springer, Berlin, 1911.
Neurath, H., Volkin, E., Erickson, J. O., Craig, H. W., Putnam, F. W., and Cooper, G. R. *Am. J. Syph., Gon. & Ven. Dis.*, 1947a, 31:347.
——— *Am. J. Syph., Gon & Ven. Dis.*, 1947b, 31:436.
Nicolle, C. *Ann. d. l'Inst. Pasteur*, 1903.
Noguchi, H. *J. Exper. M.*, 1911, 14:99, 557; 1912, 15:90.
——— *The Newer Knowledge of Bacteriology and Immunology*, Chicago, 1928; p. 478.
Pardo-Castelló, V., and Ferber, I. *Arch. Dermat. & Syph.*, 1942, 45:843.
Parran, T. *Shadow on the Land*, Reynal and Hitchcock, New York, 1937.
Pusey, W. A. *The History and Epidemiology of Syphilis*, Charles C. Thomas, Springfield, 1933.
Putnam, F. W., Volkin, E., Craig, H. W., and Neurath, H. *Am. J. Syph., Gon. & Ven. Dis.*, 1947, 31:457.
Rein, C. R., and Elsberg, E. S. *Am. J. Clin. Path.*, 1944, 14:461.
Riverius, L. *Urol. & Cutan. Rev.*, 1946, 50:510.
Rosahn, P. D., and Black-Shaffer, B. *Arch. Int. Med.*, 1943, 72:78.
Ross, E. H. *Brit. M. J.*, 1912, 2:1651.
Schaudinn, F., and Hoffmann, E. *Arb. a. d. k. Gsndhtsamte.*, 1905, 22:527.
Schereschewsky, J. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1909, 35:835, 1260, 1652.
Scott, V., Rein, C. R., Schamberg, I. L., Moore, J. E., and Eagle, H. *Am. J. Syph., Gon. & Ven. Dis.*, 1945, 29:505.
Schaffer, L. W. *Arch. Path.*, 1926, 2:50.
Stokes, J. H., Beerman, H., and Ingraham, N. R., Jr. *Modern Clinical Syphilogy*, 3rd ed., W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1944.

Stubenbord, W. D. *South. Med. J.*, 1946, 39:608.
Tung, T., and Frazier, C. N. *Am. J. Syph., Gon. & Ven. Dis.*, 1946, 30:205.
Turner, T. B. *Am. J. Hyg.*, 1936, 23:431; 1937, 25:477.
——— *J. Exper. M.*, 1939, 69:867.
——— *Textbook of Medicine*, Cecil, 7th ed., W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1947, page 409.
———, Fleming, W. L., and Brayton, N. L. *J. Clin. Invest.*, 1939, 18:471.
Urbach, E., and Beerman, H. *Am. J. Syph., Gon. & Ven. Dis.*, 1947, 31:192.
Volkin, E., Neurath, H., Erickson, J. O., and Craig, H. W. *Am. J. Syph., Gon. & Ven. Dis.*, 1947, 31:397.
———, Neurath, H., and Craig, H. W. *Am. J. Syph., Gon. & Ven. Dis.*, 1947, 31:413.
Vonderlehr, R. A., and Usilton, L. J. *Ven. Dis. Information*, U. S. Pub. Health Serv., 1938, 19:396.
——— and Usilton, L. J. *J.A.M.A.*, 1942, 120:1369.
Wadsworth, A., Maltaner, F., and Maltaner, E. *J. Immunol.*, 1928, 35:93, 105, 217.
Wagner-Jauregg, J. *Psychiat.-neurol. Wchnschr.*, 1918, 20:182. (Citado por Carpenter.)
Warthin, A. S., Buffington, E., and Wanstrom, R. C. *J. Infect. Dis.*, 1923, 32:317.
——— and Starry, A. C. *J.A.M.A.*, 1921, 76:234.
——— *J. Infect. Dis.*, 1922, 30:592.
Wile, U. J., and Snow, J. S. *J. Invest. Dermat.*, 1941, 4:103.
Williams, H. U. *Arch. Path.*, 1932, 13:779, 931.
Zinsser, H., Hopkins, J. G., and Gilbert, R. *J. Exper. M.*, 1915, 21:213.
Zurhelle, E., and Strempel, R. *Arch. J. Dermat. u. Syph.*, 1927, 153:219.
J.A.M.A., 1947, 133:709.

CAPITULO XLVII

LAS ESPIROQUETAS DE LA FIEBRE RECURRENTE, ANGINA DE VINCENT Y OTRAS ENFERMEDADES

Género: *Borrelia* Swellengrebel

El género *Borrelia* incluye las espiroquetas que causan la fiebre recurrente en el hombre y una espiroquetosis correspondiente en las aves de corral. También incluye *Bor. vincentii* y *Bor. buccale* miembros del grupo de organismos simbióticos que causan la angina de Vincent y la simbiosis fusoespiroquética.

Son grandes las diferencias entre los géneros *Borrelia* y *Treponema*. Los gérmenes del primero son mayores y más largos y se caracterizan por espiras flojas y regulares que se forman, desaparecen y se vuelven a formar conforme el microorganismo progresa. Los treponemas, por otra parte, son mucho menores y poseen espiras fijas, rígidas y fuertemente enrolladas. Los de *Borrelia* se tiñen fácilmente por los colorantes fuertes de anilina, como el violeta de genciana y la fucsina fenicada y por los colorantes de Giemsa y Wright. Con excepción de las especies de *Borrelia* pertenecientes a los simbiones fusoespiroquéticos, estos organismos son parásitos de la sangre. Algunos de ellos han llegado a adaptarse a huéspedes artrópodos, al hombre y a ciertos animales y son transmitidos por tales vectores. Son difíciles de aislar, pero, a diferencia de *T. pallidum*, conservan su virulencia cuando se cultivan en medios artificiales. Espiroquetas morfológicamente similares, pero al parecer no patógenas, han sido identificadas en la sangre de ovejas, caballos, murciélagos y en el aparato digestivo de peces e insectos. *Bor. theileri* está asociada con una infección de tipo benigno del ganado bovino en Africa del Sur.

FIEBRE RECURRENTE

Familia: *Treponemataceae* Schaudinn. Genéro: *Borrelia* Swellengrebel. Especies: *Borrelia duttonii, novyi* y *recurrentis*

El microorganismo causante de la fiebre recurrente fué observado por primera vez por Obermeier, en 1873, en la sangre de pacientes afectos de este tipo característico de fiebre. Desde entonces los estudios de otros observadores han demostrado plenamente la relación etiológica entre la enfermedad y el microorganismo.

Morfología y tinción. La espiroqueta de Obermeier es un delicado filamento espiral que mide de 7 a 9 μ de longitud (Novy) y alrededor de 1 μ de grosor. Este es su tamaño medio, pero según algunos observadores puede ser considerablemente más larga; el número de sus ondulaciones varía entre cuatro y diez o más. Comparados con los glóbulos rojos de la sangre, entre los cuales se encuentran los microorganismos, pueden variar desde la mitad hasta 9 ó 10 veces el diámetro de un glóbulo rojo. En las preparaciones de la sangre en fresco se observa una motilidad en tirabuzón muy activa y una clara oscilación lateral. En las preparaciones teñidas no se puede descubrir estructura celular precisa; el cuerpo de la célula parece homogéneo, excepto en los individuos degenerados en los cuales se ha observado una granulación

irregular en forma de rosario. Diversos observadores han descrito filamentos terminales. Novy y Knapp (1906) creen que los organismos poseen un único filamento terminal. Zettnow (1906), sin embargo, afirma haber demostrado flagelos laterales por métodos especiales de tinción. Norris, Pappenheimer y Flournoy (1906), en preparaciones teñidas por métodos policromáticos, describieron largos extremos filamentosos afilados que interpretaron como flagelos terminales bipolares; nunca observaron más de uno en cada extremo. *No forman esporas.*

Cultivo. Novy y Knapp lograron conservar los microorganismos vivos y virulentos en la sangre original hasta cuarenta días. No creen, sin embargo, que en sus experimentos haya tenido lugar una multiplicación considerable o, en otras palabras, un cultivo verdadero. Norris, Pappenheimer y Flournoy, por otra parte, obtuvieron una demostración de la multiplicación de las espiroquetas en medios

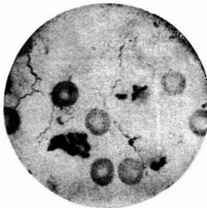


FIG. 123. ESPIROQUETA DE LA FIEBRE RECURRENTE.
(Según Norris, Pappenheimer y Flournoy.)

líquidos (fig. 123). Prepararon sus cultivos sembrando algunas gotas de sangre de rata infectada en 3 a 5 c.c. de sangre citratada humana o de rata. Los frotis hechos a partir de estos tubos, después de conservados durante veinticuatro horas a la temperatura de la habitación, mostraban un número mayor de microorganismos que en la sangre original infectada. Una multiplicación similar se pudo observar en los pasos hechos de estos tubos de "primera generación" a otros tubos de sangre citratada. Los intentos de cultivo para una tercera generación fracasaron.

Noguchi, en 1913, logró cultivar la espiroqueta de Obermeier, en condiciones anaerobias, en líquido de ascitis que contenía un fragmento de riñón estéril de conejo y algunas gotas de sangre citratada.

La espiroqueta fué cultivada en el embrión de pollo en desarrollo por Chabaud (1939) y Oag (1940); Bohls y colaboradores (1940) la han aislado directamente

de la sangre humana por este método. Además de la espiroqueta de Obermeier de la fiebre recurrente en Europa, ahora conocida como *Borrelia recurrentis* se han descrito las siguientes especies: *Bor. duttonii* en Africa Central; *Bor. kochii* en el este de Africa; *Bor. berbera* en el norte de Africa; *Bor. aegyptica* en el Sudán; *Bor. carteri* en la India; *Bor. glossinae* y *Bor. parkeri* en Estados Unidos, y *Bor. venezuelensis* en Centro y Sudamérica (Calero, 1946).

Poder patógeno. La inoculación con sangre que contiene estas espiroquetas produce enfermedad en monos, ratas y ratones. Los intentos para transmitir experimentalmente la enfermedad a perros y conejos no han sido hasta ahora logrados. La inoculación subcutánea de monos va seguida, después de dos a cuatro días, por una elevación brusca de la temperatura, que puede durar varios días. Durante este tiempo las espiroquetas pueden encontrarse en la sangre de los animales. La temperatura baja después de uno o más días y vuelve rápidamente a la normal. Por lo regular, los paroxismos no se repiten. En ocasiones, sin embargo, pueden sobrevenir dos o tres ataques antes que se establezca la inmunidad. En las ratas hay un período de incubación de dos a cinco días. Al cabo de este tiempo pueden encontrarse las espiroquetas en gran número en la sangre, y los animales presentan síntomas de infección general grave. El acceso dura de cuatro a cinco días y al final de este tiempo los microorganismos desaparecen de nuevo. En ocasiones se han observado recurrencias aun en estos animales. Excepto el aumento de tamaño del bazo no se encuentran alteraciones anatomopatológicas manifiestas.

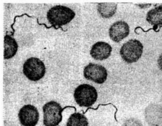


FIG. 124. ESPIROQUETA DE LA FIEBRE RECURRENTE. (De una preparación proporcionada por el Dr. G. N. Calkins.)

En el hombre, la enfermedad causada por la espiroqueta de Obermeier y organismos afines, conocida comúnmente como fiebre recurrente, prevalece en el este de Europa, India, Africa y la mayor parte de los países cálidos. De tiempo en tiempo se ha observado en forma epidémica en Europa, especialmente en Rusia; en Estados Unidos han ocurrido algunas epidemias (Francis, 1932). La enfermedad se presenta bruscamente, empezando, por lo general, con un escalofrío acompañado de repentina elevación de la temperatura y dolores generalizados. Con el alza de la temperatura, que con frecuencia excede de 40° C., hay gran postración y, en ocasiones, delirio. Al principio de la enfermedad el bazo se hace palpable y puede aparecer ictericia. Se pueden presentar manchas de color rosa semejantes al exantema del tifus y de la viruela hemorrágica, en la piel del tronco y de todo el cuerpo (Manson-Bahr, 1940).

Las espiroquetas se descubren fácilmente en la sangre mientras persiste la fiebre, que suele durar de tres a diez días (fig. 124). Al cabo de este tiempo la temperatura cede, generalmente de manera tan repentina como se elevó, y los síntomas generales desaparecen con rapidez. Después de un intervalo libre de una a tres semanas puede ocurrir una recurrencia que por lo general es menos intensa y de menor duración que el acceso original. Pueden ocurrir dos, tres o aun cuatro acce-

sos, pero la enfermedad es rara vez mortal. Cuando los pacientes sucumben, los hallazgos de autopsia no son particularmente característicos. Aparte el aumento neto de volumen del bazo, el cual histológicamente presenta alteraciones que indican hiperplasia simple, y una ligera hepatomegalia, no hay lesiones observables.

Inmunidad. Tanto la sífilis como el pian se caracterizan por recurrencias, pero la fiebre recurrente, como su nombre lo indica, presenta este fenómeno inmunológico en grado superlativo. Después del período febril, cuando la temperatura vuelve a la normal y los microorganismos desaparecen de la sangre, aparecen aglutininas y anticuerpos líticos y espiroqueticidas. Las espiroquetas no son eliminadas por completo durante el período febril y las supervivientes son capaces de alterar su estructura antigénica de tal modo que pueden multiplicarse en presencia de los anticuerpos formados frente a los antígenos liberados durante el acceso febril anterior. Cuando se han multiplicado lo suficiente para ser demostradas en frotis ordinarios de sangre ocurre una recurrencia. Se producen anticuerpos para este tipo antigénico más nuevo, y las espiroquetas son otra vez eliminadas de la sangre. *Bor. duttonii* es una espiroqueta de una plasticidad antigénica tal que Cunningham y sus colaboradores (1934) fueron capaces de identificar nueve tipos serológicos diferentes. Una vez aparecido un tipo particular, y estimulada la producción de anticuerpos ya no reaparece, por lo menos durante esa infección particular (Meleney, 1928; Cunningham y col., 1934). Pueden ocurrir nuevas infecciones dos a seis meses después, como resultado de la desaparición de los anticuerpos o de una infección con un nuevo tipo de espiroqueta. Las poblaciones nativas en las áreas endémicas suelen tener menor número de recurrencias que los visitantes, y pueden finalmente llegar a ser completamente inmunes, indicando que incluso la gran variabilidad de la espiroqueta es al fin dominada por la mayor adaptabilidad del organismo humano. Las observaciones de Sergent y Richard (1942) y Schuhardt y Hemphill (1946) hacen pensar en una base mecánica para la persistencia de las espiroquetas; estos autores encontraron los microorganismos en el cerebro de cobayos y ratas experimentalmente infectados.

Según Zarafonetis y colaboradores (1946), los animales infectados experimentalmente con *Bor. recurrentis* y *Spirillum minus* y los pacientes con fiebre recurrente suelen dar reacción de Weil-Felix positiva con *Proteus OXK*, pero no con *OX19*. Las reacciones específicas de fijación del complemento son algo más seguras que las pruebas de aglutinación (Stein, 1944).

Transmisión. La fiebre recurrente se perpetúa en la naturaleza por el ciclo garrapata-animal. Diversas especies de garrapata blanda *Ornithodorus* son los principales insectos vectores. En el oeste de Africa el huésped es el musgaño; en Panamá, el mono, *Leontocebus geoffroyi*; en Texas, el armadillo y la sarigüeya; en California, las ardillas. Las espiroquetas se pueden transmitir por vía ovárica a la descendencia por lo menos durante tres generaciones. La infección no se transmite por la picadura de la garrapata, pero sí al contaminarse la herida por las secreciones coxales, saliva y heces. No hay relación específica entre el tipo de garrapata y la especie de espiroqueta.

La fiebre recurrente llevada por la garrapata es necesariamente una enfermedad endémica. Sólo se producen epidemias verdaderas cuando un artrópodo vector, como el piojo del cuerpo, *Pediculus corporis*, está en íntimo y constante contacto con el hombre. La fiebre recurrente epidémica de Europa, particularmente en Rusia, se transmite por el piojo, pero aun en las zonas donde la enfermedad es llevada por la garrapata, la infección puede ser introducida en una población infestada con piojos y llegar a ser epidémica. En Túnez, en 1944, empezó una epidemia de fiebre

recurrente que asoló gran parte del norte de Africa durante los años de 1945 y 1946. En el Sudán, entre septiembre de 1945 y junio de 1946 ocurrieron seiscientos a novecientos casos cada semana *(Epidemiological Information Bulletin,* 1946).

Tratamiento. Una o dos dosis de *bismarsen, neoarsfenamina,* o *novarsenobillon* suelen curar a los pacientes de fiebre recurrente. Es de la mayor importancia que la droga sea administrada durante los dos primeros días de la enfermedad. *Si se da más tarde, cuando la fiebre está a punto de declinar, los pacientes sufren reacciones graves y a veces mortales, presumiblemente por efecto tóxico de las espiroquetas destruídas.* Si el diagnóstico no se ha hecho hasta cerca del final del primer acceso febril, es más prudente esperar el próximo acceso antes de dar tratamiento específico.

La *penicilina,* particularmente la penicilina G, ha demostrado ser eficaz tanto en los animales de experimentación (Williamson y Lourie, 1946; Richardson y col. 1945) como en los pacientes con fiebre recurrente transmitida por el piojo (Ingraham y Lapenta, 1946). Debe administrarse por lo menos un millón de unidades dentro de los dos días que siguen al comienzo de un período febril.

Prevención. Los sueros inmunes y de convaleciente son ineficaces; la vacuna profiláctica con cultivos muertos tampoco ha resultado satisfactoria. Se recomienda atacar directamente al insecto vector con DDT.

SIMBIOSIS FUSOESPIROQUETICA

En términos generales, los postulados de Koch deben ser satisfechos antes que un organismo sea aceptado como causa de una enfermedad determinada. En la práctica, sin embargo, el de que la enfermedad sea reproducible en el animal ha sido modificado para incluir las infecciones accidentales o experimentales en el hombre. En el esquema de Koch no hay lugar, sin embargo, para las enfermedades causadas por acción simbiótica de dos o más organismos, a menos que se haga una modificación adicional para aceptar diversos grupos simbióticos como entidades infecciosas. La influenza porcina es un ejemplo clásico de tal situación, ya que la enfermedad está causada por acción combinada del virus de la influenza porcina y del bacilo *H. influenzae suis* (Shope, 1936). Ambos organismos han sido aislados en cultivo puro, pero ninguno podrá por sí mismo reproducir la enfermedad típica. Se ha descrito una infección gangrenosa de la piel causada por estafilococos y estreptococos (Meleney, 1930), y Smith y col. (1930) han referido una infección en ratas, resultante de la acción simbiótica de un coco grampositivo y un bacilo gramnegativo. Se han descrito o sospechado otros casos análogos.

La unidad simbiótica infecciosa más complicada se ilustra con la enfermedad conocida como *angina de Vincent* o, con término más preciso, *enfermedad fusoespiroquética.* Esta infección está causada por bacilos fusiformes y espiroquetas actuando en simbiosis con vibriones y cocos. Las espiroquetas y los bacilos fusiformes nunca se presentan solos en las lesiones progresivas y no se puede reproducir la enfermedad con estos dos organismos a menos que estén presentes los otros miembros de la asociación.

La primera descripción cabal de esta infección fué publicada por Vincent en 1896 y 1898, si bien Plaut (1894) y otros autores habían observado la asociación de los bacilos fusiformes en lesiones ulceradas de las amígdalas (fig. 125). La espiroquetosis bronquial de Castellani (1906) que por algún tiempo fué considerada como una espiroquetosis tropical, está causada por la misma unidad simbiótica

mencionada. Las microfotografías de los organismos encontrados en el exudado de las lesiones, muestran casi invariablemente la presencia de bacilos fusiformes, vibriones y cocos acompañando a las espiroquetas.

Estos simbiones fusoespiroquéticos son habitantes normales de las encías, pero su número aumenta enormemente cuando la resistencia local de los tejidos disminuye por traumatismo o por carencia de ciertas vitaminas, como el ácido nicotínico y el ácido ascórbico. También se encuentran como invasores primarios o secundarios, en muchas infecciones de la faringe oral, bronquios y pulmones, y con menos frecuencia en el intestino, genitales y piel. Todo órgano o tejido del cuerpo, incluyendo el cerebro puede infectarse por metástasis de las lesiones locales (Pilot y Davis, 1924; Kline y Berger, 1929; Kelly, 1944; Smith, 1932, 1948).

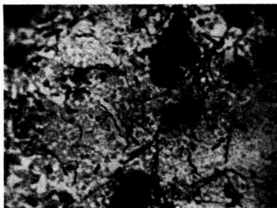


FIG. 125. FROTIS DE GARGANTA EN UN CASO DE ANGINA DE VINCENT: VÉANSE BACTERIAS FUSIFORMES Y ESPIROQUETAS.

(Fotografía de Stella Zimmerman, Syracuse University School of Medicine.)

Morfología y tinción. Los bacilos fusiformes son largos o cortos, rectos o ligeramente curvos, con extremos puntiagudos. En el proceso de división por fisión, los dos organismos se separan lentamente y con frecuencia se encuentran por pares adheridos en sus extremos por un filamento corto y delicado. Su tamaño varía desde 3 a 10 μ de longitud y 0,3 a 0,8 μ de ancho. Son gramnegativos, pero se tiñen tan tenuemente por el método de Gram que los más pequeños no suelen reconocerse. Cuando se tiñen con colorantes de anilina más fuertes, como el violeta de genciana o la fucsina fenicada, se observa que los bacilos contienen gránulos y bandas teñidos más intensamente que se sobreponen a la débil tinción de fondo.

Borrelia buccale y *Bor. vincentii* se tiñen débilmente con violeta de genciana, fucsina fenicada y con los colorantes de Giemsa y Wright. *Treponema microdentium*

y *T. mucosum* son tan difíciles de colorar como *T. pallidum*, pero pueden ser teñidos con facilidad por el método del nitrato de plata de Fontana-Tribondeau. Estos treponemas activamente móviles que se demuestran fácilmente por examen microscópico en campo obscuro, no pueden diferenciarse morfológicamente de *T. pallidum* o *T. pertenue*.

Los *vibriones* son *gramnegativos* y se parecen por su morfología y cultivo a los encontrados en la boca normal.

Cultivo. Los organismos de esta unidad simbiótica son *anaerobios*. Como ninguno forma esporas, todos mueren rápidamente a 60° C. durante una hora. Los estreptococos y los vibriones suelen adaptarse al desarrollo aerobio después de cierto número de pasos, pero los bacilos fusiformes y las espiroquetas son *anaerobios obligados*. Son difíciles de aislar y mantener en cultivo puro, pero crecen con rapidez en cultivos mixtos y en tubos de caldo de carne con líquido de ascitis herméticamente tapados con vaselina. Los estreptococos anaerobios crecen bastante bien en la superficie de placas de agar-sangre cuando se incuban a 37° C., en condiciones anaerobias. Los bacilos fusiformes y los vibriones pueden aislarse por el mismo método; con frecuencia, esto se logra como resultado de la perseverancia más que de la pericia (fig. 126). Varney (1927) ha tenido más éxito que los demás investigadores en aislar y clasificar los bacilos fusiformes.



FIG. 126. BACILOS FUSIFORMES.

Cultivo puro. Tinción con violeta de genciana. × 800. (Según Smith, D. T., *J. Infect. Dis.*, 1930, 46:303.)

Noguchi (1912) fué el primero en aislar *T. microdentium*, *T. mucosum* y *Bor. vincentii* empleando su técnica con riñón de conejo-líquido de ascitis, que había sido ideada originalmente para aislamiento de *T. pallidum*. Smith (1930) y Proske y Sayers (1934) aislaron diversas cepas de *T. microdentium* por el método de Noguchi. En 1947 Hampp logró cultivar el treponema bucal de menores dimensiones *Borrelia vincentii* y cepas de *T. pallidum* en cantidad suficiente para estudios inmunológicos.

Relación entre bacilos fusiformis y espiroquetas. La asociación constante de los bacilos fusiformes y las espiroquetas hizo pensar, como era natural, en la posibilidad de que fueran simplemente formas diferentes del mismo organismo. Tunnicliff (1906-1934) y Sanarelli (1927) publicaron la transformación de cultivos puros de bacilos fusiformes en espiroquetas, pero Varney (1927), Krumwiede y Pratt (1913) y otros observadores, no pudieron comprobar esta transformación. El problema fué investigado nuevamente por uno de nosotros (Smith, 1930, 1932). Los bacilos fusiformes medianos y pequeños aislados por Varney y Krumwiede no tienen semejanza en ningún momento con las espiroquetas, pero el bacilo fusiforme grande, que se encuentra en gran número en los frotis de casos de angina de Vincent y de boca de trinchera, probablemente no es un bacilo, sino una variante morfológica de *Borrelia buccale*. Hemos observado organismos aislados presumiblemente de cultivo puro, enrollarse lentamente semejando a *Borrelia buccale* y después enderezarse de nuevo para constituir bacilos fusiformes (fig. 127). Hemos cambiado cultivos con Tunnicliff y estamos convencidos de que sus observaciones eran correctas. Este bacilo fusiforme largo o espiroqueta es destruído fácilmente por los arsenicales, mientras que los verdaderos bacilos fusiformes no son afectados.

Metabolitos. No se han demostrado *ni exotoxinas ni endotoxinas*, pero es probable que algunos de estos organismos produzcan enzimas proteolíticas, ya que la necrosis rápida y la licuefacción de los tejidos es carácter saliente de ambas infecciones, espontánea y experimental.

Estructura antigénica. Varney (1927) aisló 18 cepas de bacilos fusiformes y las separó en cuatro grupos por reacciones específicas de aglutinación.

Infección experimental en animales de laboratorio. En cobayos, conejos, perros y ratones se producen rápidamente abscesos por inyección subcutánea o intrabronquial de la mezcla simbiótica fusoespiroquética. Las lesiones experimentales se caracterizan por gangrena local y olor fétido. En los cobayos privados de ácido ascórbico y en los perros con dietas carentes de ácido nicotínico se presentan infecciones espontáneas graves con estos organismos. Si los animales no están moribundos se restablecen cuando se les administra la vitamina omitida.

Los cultivos puros de espiroquetas, bacilos fusiformes y vibriones, no logran infectar a los animales de experimentación. Los estreptococos anaerobios, cuando se introducen en gran número producen infecciones pequeñas, transitorias, limitadas. Sin embargo, las mezclas hechas con cultivos puros de *T. microdentium*, un bacilo fusiforme pequeño, un vibrión y un estreptococo anaerobio reproducen la enfermedad típica en los cobayos (Smith, 1930, 1932). Esta mezcla no es infecciosa cuando se rompe la unidad simbiótica por inactivación de *Treponema microdentium* con pequeñas cantidades de neoarsfenamina. Proske y Sayers (1934) aislaron en cultivo puro cierto número de cepas de espiroquetas, bacilos fusiformes, vibriones y cocos, del esputo o pulmones de personas que sufrían la enfermedad fusoespiroquética. El número mínimo de microorganismos diferentes requerido para reproducir la enfermedad fué el antes descrito. Así, en forma modificada, se llenaron los postulados de Koch; la enfermedad ha sido reproducida en animales con una *mezcla hecha de cultivos puros* y los organismos han sido recuperados en cultivo puro a partir de la enfermedad experimental.



FIG. 127. BORRELIA BUCCALE.

Cultivo puro. Tinción de Fontana. × 1 000. Esta forma apareció en los subcultivos de los bacilos fusiformes de la figura 126. (Según Smith, D. T., *Oral Spirochetes and Related Organisms*, Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1932.)

Tipos clínicos de infección en el hombre. La forma más comúnmente reconocida es la que ocurre en las amígdalas. La amígdala está congestionada y eritematosa durante 12 a 24 horas, pero pronto se cubre con una seudomembrana blanca grisácea semejante a la causada por el bacilo de la difteria. En otras 24 a 48 horas la mucosa se gangrena y el aliento tórnase fétido. Puede haber ulceración rápida del tejido amigdalino, que acaba en necrosis profunda como hecha con sacabocados, con frecuencia diagnosticada erróneamente de sifilítica.

No es raro que aparezca enrojecimiento o congestión en toda la boca, acompañado de edema y seudohipertrofia de las encías. Esta forma de la enfermedad, conocida desde la primera Guerra Mundial como *boca de trinchera*, suele presentarse en forma esporádica, pero en ocasiones llega a ser epidémica en escuelas, orfelinatos y unidades militares. Durante los primeros siete a diez días las formas pulmonares de la enfermedad no pueden distinguirse de las causadas por los cocos

piógenos ordinarios. Más tarde, un producto metabólico del organismo empieza a necrosar los tejidos pulmonares y, después de varias semanas, el paciente presenta el cuadro clínico y anatómico de *gangrena pulmonar, absceso pulmonar* o *bronquiectasia* (fig. 128). La mortalidad del absceso del pulmón viene a ser de 34 por ciento (Smith, 1948).



FIG. 128. ORGANISMOS SIMBIÓTICOS FUSOESPIRILARES.

Encontrados en un paciente con bronquiectasia crónica. (Según Smith, D. T., *Oral Spirochetes and Related Organisms*, Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1932.)

Transmisión. La fuente de infección es la propia boca del paciente. La enfermedad suele ser esporádica y no contagiosa. En ocasiones, sin embargo, el médico contrae una infección de amígdalas o pulmones por tratar un paciente con angina de Vincent, y en casos raros ocurren epidemias de boca de trinchera.

Tratamiento. El tratamiento local con arsenicales o penicilina suele dominar la lesión bucal. La neoarsfenamina, sulfarsenamina o el bismarsin son eficaces para curar la infección pulmonar si se administran durante los primeros días de la enfermedad, antes del comienzo de la necrosis del tejido pulmonar. Al parecer, la penicilina es aún más eficaz que los arsenicales (Smith, 1948). Las úlceras tropicales primarias causadas por estos organismos simbióticos también responden al tratamiento con penicilina (Pinkerton, 1947).

Prevención. Una buena higiene de la boca es la mejor medida preventiva; para ello se necesita administrar la adecuada cantidad de vitaminas en la dieta, así como no descuidar la limpieza mecánica de los dientes.

ESPIROQUETOSIS DE LAS AVES DE CORRAL

Especie: *Borrelia anserina* (Sakharoff) Bergey y col.
Sin: *Spirochaeta gallinarum*

Una enfermedad infecciosa aguda que ocurre entre las gallinas, principalmente en América del Sur, está causada, según han demostrado Marchoux y Salembeni, por una espiroqueta, *Borrelia anserina (Spirochaeta gallinarum)*, morfológicamente similar a la espiroqueta de Obermeier (fig. 129).

La enfermedad se presenta repentinamente con fiebre, diarrea y gran agotamiento; suele matar al animal. Las espiroquetas se demuestran con facilidad en la sangre circulante de los animales infectados tiñendo los frotis con Giemsa o con fucsina fenicada diluída.

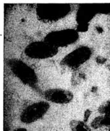


FIG. 129. BORRELIA ANSERINA.

(De una preparación proporcionada por el Dr. G. N. Calkins.)

La transmisión experimental de un animal a otro se logra con facilidad por inyección subcutánea de sangre. Otras aves, como gansos, patos y palomas, son susceptibles; hasta ahora no se ha logrado inocular con éxito

a los mamíferos. Según Levaditi y Manouelian, las espiroquetas se encuentran no sólo en la sangre, sino densamente distribuídas por diversos órganos.

En condiciones normales, las infecciones de las gallinas parecen depender de una especie de garrapata que actúa como huésped intermediario y causa la infección por picadura. La espiroqueta, según Marchoux y Salembeni, se puede encontrar en el intestino de las garrapatas hasta cinco meses después de su infección desde un ave enferma.

En la sangre de los animales que han sobrevivido a la infección aparecen sustancias aglutinantes; se puede lograr la inmunización activa de los animales por inyección de sangre infectada en la cual se han matado las espiroquetas, bien sea por un calor moderado o conservándola a la temperatura de la habitación. Además, los sueros de los animales inmunes tienen acción protectora para otras aves.

Noguchi, en 1912, logró cultivar *Borrelia anserina* empleando el mismo método que le permitió cultivar los organismos de la fiebre recurrente. Las siembras se hicieron con unas gotas de sangre que contenían las espiroquetas y en tubos de líquido ascítico con un fragmento de riñón estéril de conejo; el cultivo, a 37,5° C. en condiciones anaerobias.

BIBLIOGRAFIA

Bohls, S. W., Irons, J. V., and DeShazo, T. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1940, 45:375.
Calero, C. *Am. J. Trop. Med.*, 1946, 26:761.
Castellani, A. *J. Trop. M.*, 1905, 8:253.
——— *Lancet.* 1906, 1:384.
Chabaud, A. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1939, 32:483.
Cunningham, J., Theodore, J. H., and Fraser, A. G. L. *Indian J. Med. Res.*, 1934, 22:105, 595.
Dutton and Todd. *J. Trop. M.*, 1905.
Epidemiological Information Bulletin, 1946, 2:929.
Francis, E. *Tr. Ass. Am. Physicians*, 1932, 47:143.
Hampp, E. G. *J. Am. Dent. Ass.*, 1947, 34:606.
Hindle, E. *A System of Bacteriology in Relation to Medicine*, London, 1931, 8:101, *et seq.*, esp. pp. 142, 145, 147-184.
Ingraham, H. S., and Lapenta, R. G. *U. S. Naval Med. Bull.*, 1946, 46:1719.
Kelly, F. C. *J. Infect. Dis.*, 1944, 74:93.
Kline, B. S., and Berger, S. S. *Arch. Surg.*, 1929, 18:481.
Krumwiede, C., and Pratt. *J. Infect. Dis.*, 1913, 13:438.
Levaditi and Manouelian. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1906.
Lofgren, R., and Soule, M. H. *J. Bacteriol.*, 1945, 50:305.
Manson-Bahr, P. H. *Manson's Tropical Diseases*, Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1940.
Marchoux and Salembeni. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1903.
Meleney, H. E. *J. Exper. M.*, 1928, 48:65.
Meleney, F. L. *Ann. Surg.*, 1930, 91:287; 1931, 94:961; 1935, 101:997.
Noguchi, H. *J. Exper. M.*, 1912, 16:199, 620; 1913, 17:89.
——— *The Newer Knowledge of Bacteriology and Immunology*, Chicago, 1928, Chap. 36, pp. 452-497.
Norris, Pappenheimer and Flournoy. *J. Infect. Dis.*, 1906, 3.
Novy and Fränkel. Citado por Noguchi.
Novy and Knapp. *J. Infect. Dis.*, 1906, 3.
Oag, R. K. *J. Path. & Bacteriol.*, 1940, 51:127.
Obermeier. *Centralbl. f. d. med. Wissensch.*, 1873, 11.
Pilot, I., and Davis, D. J. *Arch. Int. Med.*, 1924, 34:313.
Pinkerton, J. McL. *J. Trop. Med.*, 1947, 50:243.
Plaut, H. C. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1894, 20:920.
Proske, H. O., and Sayers, R. R. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1934, 49:839, 1212.
Richardson, A. P., Walker, H. A., Loeb, P., and Miller, I. *J. Pharmacol. & Exp. Therap.*, 1945, 85:23.
Sanarelli, G. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1927, 41:679.
Schuhardt, V. T., and Hemphill, E. C. *Science*, 1946, 103:422.
Sergent, A., and Richard, H. *Arch. de l'Inst. Pasteur d'Algérie*, 1942, 20:293, 298.
Shope, R. E. *J. Exper. M.*, 1936, 64:47, 791.
Smith, D. T. *Am. Rev. Tuberc.*, 1927, 15:352; 1927, 16:584.
——— *Oral Spirochetes and Related Organisms in Fusospirochetal Disease*, Williams & Wilkins

Co., Baltimore, 1932.
——— *Arch. Surg.*, 1931, 21:1173.
——— *J. Infect. Dis.*, 1930, 46:303.
——— *Tubercle*, 1928, 9:420.
——— *J. Thoracic Surg.*, 1948 (en prensa).
———, Bethune, N., and Wilson, J. L. *J. Bacteriol.*, 1930, 20:361.
Stein, G. J. *J. Exper. M.*, 1944, 79:115.
Tunnicliff, R. *J. Infect. Dis.*, 1906, 3:148; 1911, 8:316; 1923, 33:147; 1933, 53:280; 1934, 55:380.
Varney, P. *J. Bacteriol.*, 1927, 13:275.
Vincent, H. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1896, 10:488.
——— *Bull. et mém. Soc. méd. d. hôp. de Par.*, 1898, 15:244.
Williamson, J., and Lourie, E. M. *Brit. Med. J.*, 1946, 1:828.
Zarafonetis, C. J. D., Ingraham, H. S., and Berry, J. F. *J. Immunol.*, 1946, 52:189.
Zettnow. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1906, 32.

CAPITULO XLVIII

ICTERICIA INFECCIOSA POR LEPTOSPIRA (ENFERMEDAD DE WEIL) Y OTRAS LEPTOSPIROSIS

Orden: *Spirochaetales.* Familia: *Treponemataceae* Schaudinn. Género: *Leptospira* Noguchi. Especie tipo: *Leptospira icterohaemorrhagiae* (Inada e Ido) Nogucho

Diversas enfermedades infecciosas conocidas desde hace tiempo y caracterizadas por fiebre, ictericia y hemorragias petequiales están causadas por diversos tipos de una espiroqueta característica llamada *Leptospira* (Noguchi, 1917). Las más importantes de estas enfermedades son: 1) ictericia infecciosa hemorrágica o enfermedad de Weil; 2) fiebre del Japón o de los siete días; 3) leptospirosis de los Estados Unidos (Meyer y col., 1939).

La ictericia espiroquética, o leptospirosis, ocurre en todo el mundo; a diversas especies de *Leptospira* se les ha concedido categoría de especie, principalmente a causa de las localizaciones geográficas más que a las características biológicas. En la edición de 1948 del *Manual* de Bergey, solamente se reconocen cuatro especies, tres de las cuales son patógenas y una saprófita. La *Leptospira* patógena más común y ampliamente distribuída es *L. icterohaemorrhagiae,* que produce una enfermedad primitiva de las ratas, pero que también puede infectar al hombre y al perro. La segunda en importancia es la especie oriental *L. hebdomadis,* que causa la fiebre de los siete días en el Japón y es transmitida por el ratón campestre. *L. canicola* produce una enfermedad en los perros, pero también infecta al hombre. La especie saprófita *L. biflexa* se encuentra en el agua estancada.

En Rusia y en Palestina se ha encontrado ganado bovino infectado con una especie innominada de *Leptospira* y ha habido algunas infecciones en el hombre, presumiblemente por contacto con los animales enfermos. Los sueros de estas vacas aglutinaron *Leptospira* bovina, pero no *L. icterohaemorrhagiae* de la rata (Bernkopf y col., 1947).

Morfología y tinción. Las espiroquetas del género *Leptospira* son organismos flexibles finos, fuertemente enrollados, que miden de 7 a 14 μ de longitud y 0,25 a 0,3 μ de diámetro (Noguchi, 1928). Las espirales se componen de vueltas tan estrechamente enrolladas que con frecuencia es difícil distinguir las espiras; así, el organismo, incluso en campo obscuro, puede parecer una cadena de cocos diminutos. El tercio terminal del cuerpo de la espiroqueta es más flexible que la porción media; generalmente se flexiona para formar gancho. El organismo es móvil; progresa por movimiento ondulatorio y una rotación rápida del eje longitudinal. Durante este movimiento rotatorio, un extremo puede curvarse formando gancho, mientras que el otro permanece recto (fig. 130). El organismo progresa entonces lentamente en dirección del extremo recto. Con frecuencia ambos extremos tienen forma de gancho, generalmente en direcciones opuestas y el organismo gira rápidamente sobre su eje longitudinal. La reproducción tiene lugar por división transversal. En ocasiones se forman cadenas de organismos.

Leptospira en los frotis se puede teñir por el método del nitrato de plata de Fontana-Tribondeau; en los tejidos, por la técnica de Levaditi. Las espiras están

tan estrechamente enrolladas que el precipitado de la sal argéntica suele obscurecerlas y los organismos aparecen como bastones rectos o ligeramente curvados. Las vueltas de los microorganismos se pueden ver en campo obscuro y quedan representadas en micrografías electrónicas (Morton y Anderson, 1943).

Cultivo. Las leptospiras son *aerobias* y se desarrollan mejor a pH 7,2 entre 25° a 35° C. Los investigadores japoneses usaron el medio del líquido de ascitis de Noguchi para obtener sus primeros cultivos (Inada y col., 1916). Noguchi (1917) introdujo después un medio más simple compuesto de solución salina fisiológica, suero fresco de conejo, hemoglobina de conejo y 0,2 por ciento de agar. Se ha comprobado que el ácido nicotínico, la tiamina y la riboflavina aumentan el crecimiento (Rosenfeld y Greene, 1941). Chang (1947) introdujo un medio nuevo que contiene tampón de fosfato, extracto de hígado pulverizado, suero y hemoglobina de caballo y 0,2 por ciento de agar.

Las leptospiras crecen rápidamente en las membranas del embrión de pollo en germinación y matan al embrión en menos de siete días (Morrow y col., 1938; Chabaud, 1939). En ocasiones se pueden aislar leptospiras de los materiales contaminados, por cultivo del filtrado de bujías Berkefeld. Schüffner (1940) empleó el cobayo como filtro biológico. Con esta técnica, el material contaminado se inyecta al animal intraperitonealmente de 0,5 a 1,0 c.c., y después de diez minutos se extrae la sangre del corazón y se cultiva en medio adecuado.



FIG. 130. LEPTOSPIRA ICTEROHAEMORRHAGIAE.

Representación esquemática de los organismos en campo obscuro.

Resistencia. A la temperatura de la habitación, las leptospiras permanecen viables en sangre desfibrinada durante siete días y en el hígado de cobayos infectados, conservados en la nevera, durante 26 días. Cepas adaptadas viven durante semanas en el medio de cultivo, sin transferir (Noguchi, 1917). Resisten la refrigeración, pero se destruyen en 30 minutos de 50° a 55° C. Los organismos no se pueden cultivar en un medio que sea ligeramente ácido; son destruídos rápidamente por el jugo gástrico y disueltos por la tripsina y la bilis, pero no por solución al 10 por ciento de saponina.

La *penicilina* es moderadamente eficaz en los experimentos tanto *in vivo* como *in vitro* (Alston y Broom, 1944). La *estreptomicina* es menos leptospiroqueticida que la penicilina (Wylie y Vincent, 1947).

Metabolitos. No producen *ni exotoxinas ni endotoxinas;* el daño para las células del hígado y de los riñones resulta, al parecer, del crecimiento local del microorganismo (Stavitsky, 1945a).

Estructura antigénica. Hay diferencias antigénicas definidas entre *L. biflexa* saprófita y las especies patógenas. Debe observarse que *L. icterohaemorrhagiae* patógena puede ser aislada del agua contaminada por orina de ratas portadoras del organismo. También son evidentes las diferencias antigénicas entre las tres especies patógenas, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. hebdomadis* y *L. canicola;* puede haber diferentes tipos antigénicos de *L. icterohaemorrhagiae* (Wood, 1947). En la sangre de los pacientes aparecen anticuerpos específicos, que pueden demostrarse por pruebas líticas o de aglutinación, después del décimo al décimocuarto día. La aglutinación al 1:300 se considera diagnóstica, mientras que una prueba negativa después de treinta días de enfermedad prácticamente excluye la posibilidad de que el paciente tenga enfermedad de Weil (Gardner y Wylie, 1946).

Infección espontánea en los animales. Las ratas, ratones caseros, ratones silvestres y perros son huéspedes primarios de leptospiras patógenas. La enfermedad espontánea no suele ser mortal, pero deja al animal con los riñones atacados y orina infecciosa. Los perros adquieren *L. icterohaemorrhagiae* por asociación con ratas; de ello resulta una enfermedad caracterizada por ictericia y conocida en EE. UU. como *yellows.* * La enfermedad espontánea en los perros, causada por *L. canicola,* se llama *enfermedad de Stuttgart* o *tifus canino* (H. C. Smith, 1947).

Infección experimental en animales de laboratorio. Los cobayos jóvenes se infectan fácilmente por las leptospiras presentes en la sangre, tejidos u otros exudados cuando estos materiales se introducen intraperitoneal, intracutánea o subcutáneamente o por vía bucal. La fiebre empieza unas 24 horas después de la inoculación, alcanza el máximo del cuarto al quinto día y luego baja a la normal o subnormal. La ictericia aparece conforme la fiebre declina y la muerte ocurre entre los días séptimo y duodécimo después de la inoculación. Las lesiones características que contienen numerosas leptospiras se encuentran en el hígado y en los riñones. La virulencia se acrecienta por pases seriados en cobayos.

El roedor conocido en EE. UU. con el nombre de "hamster dorado" es muy sensible a la leptospirosis experimental (Morton, 1942; Larson, 1944).

Las ratas y ratones no son adecuados para la infección experimental, porque pueden ser inmunes o pueden sufrir infección espontánea al tiempo de la inoculación. Larson (1941), sin embargo, emplea ratones jóvenes de colonias seleccionadas.

Tipos clínicos de infección en el hombre. El período de incubación varía de 9 a 19 días, con promedio de 10 días. *Leptospira icterohaemorrhagiae* puede penetrar en el cuerpo por una erosión de la piel, pero generalmente se adquiere por la boca con alimentos o agua contaminados por orina de animales infectados. Si bien la ictericia es característica de los casos típicos de enfermedad de Weil, las formas leves no suelen presentar este síntoma. La mortalidad varía de 4 a 48 por ciento; fué de 10,2 por ciento en los 452 casos estudiados en Holanda (Ashe y col., 1941).

Las infecciones causadas por *L. hebdomadis* o *L. canicola* suelen ser menos graves; la ictericia es mínima o no se presenta.

Fiedler divide la enfermedad de Weil en tres etapas: un período inicial de dos o tres días, con fiebre, seguido por un segundo período de tres días durante el cual se presentan la ictericia, el edema del hígado, el aumento de tamaño del bazo y las hemorragias de la piel. El período de defervescencia empieza hacia el séptimo día e inicia la convalecencia. Inada describe el proceso como sigue: El comienzo se inicia por escalofríos y fiebre, trastornos intestinales, dolor de cabeza, dolores musculares, hiperemia de las conjuntivas y albuminuria. En este período es raro que sobrevenga la muerte; durante este tiempo las espiroquetas circulan libremente en la sangre, que, inyectada a los cobayos, produce una reacción típica. Según Inada, desde este momento en adelante decrece la infecciosidad de la sangre. Desde el séptimo hasta el treceavo día del período de ictericia, los síntomas disminuyen, aparecen la ictericia y las hemorragias cutáneas junto con gran debilidad y síntomas nerviosos y cardíacos. Los dos períodos se intercalan y en el segundo es cuando la muerte es más común. En casos de muerte, en este tiempo las espiroquetas han desaparecido de la sangre y se pueden demostrar los anticuerpos por la prueba de Pfeiffer. Durante el segundo período las espiroquetas están presentes en la orina y se pueden encontrar por examen en campo obscuro. Conforme los anticuerpos se van produciendo las espiroquetas desaparecen de la sangre y del hígado. Ello puede ocurrir precozmente en el curso de la enfermedad.

* En Castilla se conoce por "ictericia" o "aliarcán". (N. del T.)

El período de convalecencia empieza hacia los días décimotercero o décimocuarto. La ictericia disminuye y aparecen la anemia y la emaciación. Los anticuerpos alcanzan su máxima concentración en el suero; las espiroquetas desaparecen por completo de la sangre y se hacen más abundantes en orina. Inada afirma que el único órgano en el cual se pueden encontrar espiroquetas por este tiempo son los riñones. Por los días décimonono o vigésimo, prácticamente todos los pacientes tienen microorganismos en la orina.

Por lo general, un ataque de leptospirosis va seguido de inmunidad permanente que parece ser de tipo humoral (Stavitsky, 1945b; Chang, 1946).

Transmisión. *Leptospira icterohaemorrhagiae* ha sido encontrada en el 4 por ciento de las ratas en New York, el 10 por ciento en Filadelfia, el 30 por ciento en Inglaterra y el 40 por ciento en Holanda (Raven, 1941; Ashe y col., 1941). El ratón campestre es el que mantiene la infección en Oriente. *L. canicola* se presenta en el 25 por ciento de los perros en el norte de California (Rosenbaum, 1946); no es raro que los que atrapan perros y los veterinarios se infecten por contacto con estos animales (Meyer y col., 1939).

La leptospirosis es relativamente común en Holanda, Dinamarca, Japón, Africa, Sudamérica y está siendo reconocida con frecuencia creciente en Estados Unidos (Ashe y col., 1941; Bertucci, 1945).

Esta enfermedad puede ser considerada profesional en hombres adultos jóvenes que trabajan en áreas húmedas donde las ratas son comunes; los limpiadores de pescado y los que aderezan aves se infectan con frecuencia, así como los trabajadores de alcantarillas, zapadores, barqueros, cortadores de caña de azúcar y trabajadores en campos de arroz. Se ha registrado una epidemia originada por el agua (Jorge, 1932).

Tratamiento. Se ha empleado con cierto éxito en la leptospirosis precoz un suero inmune no específico que contenía substancias leptospirolíticas. Probablemente la penicilina es la droga de elección; debe darse en dosis relativamente grandes al principio de la enfermedad (Bounds y Kingery, 1946; Hutchison y col., 1946).

Prevención. La erradicación completa de las ratas, ratones y ratones silvestres infectados sería el ideal, pero todavía no es posible. Los alimentos y el agua deben protegerse de la contaminación. Quienes trabajan en lugares húmedos, donde el agua puede haber sido contaminada por ratas infectadas, deben usar botas de caucho.

En el Japón se practica la inmunización activa con leptospiras muertas por el calor.

BIBLIOGRAFIA

Alston, J. M., and Broom, J. C. *Brit. Med. J.*, 1944, 2:718.
Ashe, W. F., Pratt-Thomas, H. R., and Kumpe, C. W. *Medicine*, 1941, 20:145.
Bernkopf, H., Olitzki, L., and Stuczynsky, L. A. *J. Infect. Dis.*, 1947, 80:53.
Bertucci, E. A., Jr. *Am. J. Med. Sci.*, 1945, 209:86.
Bounds, L. H., and Kingery, R. M. *U. S. Naval M. Bull.*, 1946, 46:1808.
Chabaud, A. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1939, 32:483.
Chang, S. L. *J. Clin. Invest.*, 1946, 25:752.
——— *J. Infect. Dis.*, 1947, 81:28, 35.
Fiedler. *Deutsche Arch. f. klin. Med.*, 1892, 1:232.
Gardner, A. D., and Wylie, J. A. H. *Lancet*, 1946, 1:955.
Hindle, E. *Brit. Med. J.*, 1925, 2:57.
Hutchison, J. H., Pippard, J. S., Gleeson-White, M. H., and Sheehan, H. L. *Brit. Med. J.*, 1946, 1:81.
Ido, Hoki, Ito, and Wani. *J. Exper. M.*, 1916, 24:485; 1917, 26:341.
Inada, R. *J. Exper. M.*, 1917, 26:355.
——— y col. *J. Exper. M.*, 1916, 23:377; 1917, 26:341.
Jorge, R. *Bull. Off. Int. Hyg. Pub.*, 1932, 24:88.

Larson, C. L. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1941, 56:1546; 1943, 58:10; 1944, 59:522.
Meyer, K. F., Stewart-Anderson, B., and Eddie, B. *Am. J. Pub. Health*, 1939, 29:347.
Morrow, G., Syverton, J. T., Stiles, W. W., and Berry, G. P. *Science*, 1938, 88:384.
Morton, H. E. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1942, 49:566.
——— and Anderson, T. F. *J. Bacteriol.*, 1943, 45:143.
Noguchi, H. *J. Exper. M.*, 1917, 25:755.
——— *The Newer Knowledge of Bacteriology and Immunology*, Chicago, 1928, Chapter XXXVI, pp. 452-497.
Raven, C. J. *J. Infect. Dis.*, 1941, 69:131.
Rosenbaum, H. D. *Arch. Int. Med.*, 1946, 78:531.
Rosenfeld, W. D., and Greene, M. R. *J. Bacteriol.*, 1941, 42:165.
Schüffner, W. *Centralbl. f. Bakteriol., Parasit. u. Infektionskrankh.*, I Abt., Orig., 1940, 145:341.
Smith, H. C. *Vet. Med.*, 1947, 42:138.
Stavitsky, A. B. *J. Infect. Dis.*, 1945a, 76:179.
——— *J. Immunol.*, 1945b, 51:397.
Weil, A. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1886, 39:209.
Wolbach, S. B., and Binger, C. A. L. *J. Med. Res.*, 1914, 30:9.
Wood, W. B., Jr. *Cecil's Textbook of Medicine*, W. B., Saunders Co., Philadelphia, 7th ed., 1947, p. 425.
Wylie, J. A. H., and Vincent, E. *J. Path. & Bacteriol.*, 1947, 59:247.

CAPITULO XLIX

SPIRILLUM MINUS Y FIEBRE POR MORDEDURA DE RATA

Familia: *Pseudomonadaceae* Winslow y col. Género: *Spirillum* Ehrenberg. Especie: *Spirillum minus* Carter

La fiebre por mordedura de rata es una enfermedad infecciosa causada por un organismo semejante a una espiroqueta, *Spirillum minus (Spirochaeta morsus muris)*; se contrae generalmente por la mordedura de una rata (Ruge, 1929).

En 1840, Wilcox, en Louisiana, dió la primera explicación científica de un caso de fiebre por mordedura de rata. El período moderno de su estudio data de la monografía de Miyake, en 1900, sobre *Rattenbisskrankheit*. A Miyake corresponde la introducción del nombre japonés de la enfermedad *sodoku* (de *so*, rata, y *doku*, veneno). La enfermedad es frecuente en el Japón, pero se han publicado casos en casi todas las partes del mundo. Bayne-Jones (1931) recogió 75 casos de enfermedad de las publicaciones médicas en los Estados Unidos en un período de noventa años, desde 1840 a 1930. Desde entonces se han publicado referencias adicionales, en especial el estudio de un caso y el del microorganismo, por Francis, en 1932.

Las revisiones de Brown y Nunemaker (1942), Beeson (1943) y Watkins (1946) indican que esta infección está siendo reconocida con mayor frecuencia en los Estados Unidos. Las infecciones con este espirilo deben diferenciarse de la fiebre producida por *Streptobacillus moniliformis (Actinomyces muris ratti)*, que también es transmitido por mordedura de rata (Brown y Nunemaker, 1942; Haynes, 1947).

Futaki y sus colaboradores descubrieron la causa de la fiebre por mordedura de rata en 1916, y denominaron al microorganismo *Spirochaeta morsus muris*. Robertson ha identificado este organismo con *Spirillum minus*, descubierto por Carter en 1887, en la India, en la sangre de una rata. El nombre de *Spirillum minus* ha sido adoptado ampliamente. Bayne-Jones, sin embargo, piensa que incluir este organismo en el grupo de los espirilos y vibriones no es adecuado y que por su semejanza con las espiroquetas debe ser clasificado con ellas. Para las espiroquetas flageladas de este tipo, Dubosq y Lebailly propusieron el género *Spirella* y en la exposición de Noguchi, de las características del organismo, en 1928, se usó el nombre de *Spirella morsus muris* para el microorganismo de la fiebre por mordedura de rata.

Morfología. *Spirillum minus* es un microorganismo espiral de 3 a 5 μ de longitud y aproximadamente 0,2 μ de grosor, con extremos puntiagudos. Bayne-Jones ha visto solamente un flagelo en cada extremo, pero Adachi (1921) y Zuelzer (1920) han descrito manojos de flagelos en cada polo. En la sangre de un animal infectado aparecen simultáneamente formas cortas y largas. El cuerpo es relativamente rígido y retorcido en una a cuatro espiras angulares con crestas que se apartan cosa de 1 μ. Despliega un movimiento de vaivén extremadamente rápido con giro alrededor de su eje longitudinal (fig. 131).

La espiroqueta es *gramnegativa*. Las tinciones de Giemsa y Wright son de la mayor utilidad para demostrar los organismos en las extensiones de sangre. Los métodos de impregnación argéntica, tales como el de Fontana-Tribondeau, tiñen los flagelos. La iluminación en campo obscuro de una gota de sangre que contiene los microorga-

nismos es el método mejor para demostrar su rápida movilidad, estructura espiral y flagelos.

Cultivo. Aunque ha habido algunas publicaciones de cultivos logrados con el microorganismo, en particular por Futaki y sus colaboradores (1917) y por Joekes (1925), probablemente este espirilo no ha sido nunca cultivado. La prueba de que el microorganismo produce la fiebre por mordedura de rata ha sido proporcionada por la inoculación experimental del hombre con sangre que contenía el microorganismo.



Fig. 131. Spirillum minus.

1. En la sangre de un cobayo. Forma corta. Tinción de Wright. × 1 500. *2.* En la sangre de un ratón blanco. Forma larga. (Army Med. Museum 50281, de Francis.) *3.* En el plasma de un cobayo. Flagelo en cada extremo teñido por el método argéntico de Fontana-Tribondeau. (Army Med. Museum 50417, de Francis.)

El diagnóstico definitivo de fiebre por mordedura de rata debe basarse en la demostración de *Spirillum* por pruebas de laboratorio. Estas son, en orden de valor:

1. La inoculación de ratones blancos y cobayos con sangre del paciente, exudado de la lesión inicial, serosidad obtenida por expresión de las placas exantematosas, material aspirado de los ganglios linfáticos o fragmentos de tejidos lesionados. Estos animales son susceptibles, adquieren la infección por inoculación de muy pocos organismos y pasan por los períodos característicos de la enfermedad, con espirilos en sangre. Los ratones blancos alojan con frecuencia este organismo (Francis, 1932). Por lo tanto, es necesario comprobar que estos animales están libres de espirilos antes de hacer las inoculaciones. Las de ratones deben ser comprobadas por inyección del mismo material en cobayos.

2. El examen de la sangre y de los exudados de las lesiones por iluminación en campo obscuro y por tinción. El organismo rara vez ha sido descubierto con certeza en la sangre del hombre, pero se puede encontrar en el material de las lesiones. Las tinciones de Wright y Giemsa son adecuadas. Los flagelos se pueden demostrar mejor con la coloración argéntica de Tribondeau-Fontana.

3. La prueba de la inmovilización. La mezcla de suero de paciente con sangre de ratón o cobayo que contenga los espirilos puede hacer que el organismo pierda su movilidad. Esta es una prueba confirmatoria, pero en muchos casos resulta negativa, incierta y sujeta a error.

Infección clínica en el hombre. En un caso no complicado por infección mixta o secundaria, la herida por mordedura de rata cura prontamente. Después de un período de incubación de 5 a 14 días (promedio de 13 días, con períodos ocasionales de incubación de 6 semanas o más) el sitio de la herida se inflama y se vuelve purpúreo y doloroso; puede aparecer una úlcera indurada, chancroide, con una costra

negra, que en algunas partes del cuerpo puede alcanzar un diámetro de 5 a 10 cm. Los ganglios linfáticos regionales se inflaman y los adyacentes se agrandan y se hacen dolorosos. La aparición de la lesión local se acompaña de malestar general, dolor de cabeza y una repentina alza de la temperatura, generalmente con escalofríos. Después de ello, los períodos de fiebre alternan con los de apirexia. La temperatura se eleva bruscamente a 39,5° ó 40° C., permanece elevada durante 24 a 48 horas y cae rápidamente a la normal en unas 36 horas. Los períodos intermedios de apirexia duran de tres a nueve días. En los casos no tratados, este tipo de fiebre recurrente puede continuar durante semanas o meses, cediendo gradualmente. En la primera semana del comienzo de la fiebre aparece el exantema característico. Este es una erupción macolupapular purpúrea en la piel de brazos, piernas y tronco, y en ocasiones de la cara y el cuero cabelludo. Las lesiones de la piel no se ulceran. Estas máculas palidecen algo durante los períodos de apirexia, pero reaparecen con nuevas placas de erupción durante los paroxismos febriles. Además de los síntomas cardinales, como la inflamación recurrente en el sitio de la infección, la fiebre de tipo recidivante y la erupción cutánea característica, hay muchos síntomas secundarios.

La enfermedad no tratada tiende a acabar en el restablecimiento después de varios meses, pero se han observado infecciones prolongadas durante 4 a 20 años. La mortalidad ha sido estimada en el 10 por ciento, pero esta cifra es demasiado alta ya que muchos casos mortales lo fueron por infección piógena secundaria. La muerte debe ser rara en los casos no complicados tratados adecuadamente con penicilina y arsenicales.

La reacción de Wassermann suele ser negativa cuando puede excluirse la sífilis.

Hay muy pocas autopsias registradas de casos de fiebre por mordedura de rata. La lesión local, que es un granuloma sin supuración, muestra necrosis del epitelio e infiltración densa de células redondas en el corion. En la erupción cutánea ocurre una infiltración similar de células redondas, con dilatación vascular. Las lesiones de los órganos son principalmente las que corresponden a enfermedad febril de larga duración.

Transmisión. La fiebre por mordedura de rata es una enfermedad primaria de las ratas silvestres, transmisible a las ratas domésticas, a otros diversos animales y al hombre, por mordedura del animal infectado. Las pulgas y otros insectos no son vectores; no se ha registrado la transmisión de la enfermedad de hombre a hombre por contacto, por excretas o por intermedio de objetos. Se han publicado casos atribuídos a mordeduras de gatos, hurones y comadrejas.

La frecuencia de la enfermedad en las ratas no se conoce con precisión. Parmanand (1925) encontró infectadas del 2 al 11 por ciento de las ratas en Bombay, mientras que Knowles y Das Gupta (1928) encontraron en Calcuta que de 23 ratas estaban infectadas el 21 por ciento, aproximadamente.

El organismo infectante es llevado a la herida por los dientes o por material que existe en la boca o los labios de la rata, que cae en la superficie de la herida. *Spirillum* no ha sido encontrado en la saliva de las ratas; puede llegar a la boca y a los dientes por sangre de las encías dañadas, lesiones dentro de la boca, exudado conjuntival infectado (Mooser, 1925; Bayne-Jones y Lerner, 1930) que drena por los conductos lagrimales o por el exudado de lesiones pulmonares. Cuando varias personas han sido mordidas por una rata infectada, es frecuente que sólo la primera adquiera la enfermedad.

La fiebre por mordedura de rata empieza en forma de herida infectada. Como esta herida puede infectarse con otros organismos además de *Spirillum minus*, existen otras formas de fiebre por mordedura de rata. En estos procesos se han encontrado gran

variedad de cocos, bacilos y estreptotrix (Schottmüller, 1914; Blake, 1916). Las infecciones graves y mortales, generalmente de naturaleza septicémica y piógena, han sido producidas por estos microorganismos secundarios o acompañantes.

BIBLIOGRAFIA

ADACHI, K. *J. Exper. M.*, 1921, 33:647.
BAYNE-JONES, S. *N. York State J. M.*, 1927, 27:1113.
—— *Internat. Clin.*, 1931, 41st ser., 3:235.
—— and LERNER, M. L. *Arch. Ophth.*, 1930, 4:858.
BEESON, P. B. *J.A.M.A.*, 1943, 123:332.
BLAKE, F. G. *J. Exper. M.*, 1916, 23:39.
BROWN, T. McP., and NUNEMAKER, J. C. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1942, 70:201.
CARTER, H. W. *Scient. Mem. Med. Off. India*, 1887, Part 3, p. 45 (citado por Robertson).
DUBOSQ, O., and LEBAILLY, C. *Compt. rend. Acad. d. sc.*, 1912, 154:535.
FRANCIS, E. *Tr. Ass. Am. Physicians*, 1932, 47:143.
—— *J.A.M.A.*, 1932, 99, 70.
—— *U. S. Pub. Health Rep.*, 1936, 51:976.
FUTAKI, K., TAKAKI, F., TANIGUCHI, T., and OSUMI, S. *J. Exper. M.*, 1916, 23:249; 1917, 25:33.
HATA, S. *München. med. Wchnschr.*, 1912, 59:854.
HAYNES, E. *J. Bacteriol.*, 1947, 53:802.
JOEKES, T. *Lancet*, 1925, 2:1225.
KNOWLES, R., and DAS GUPTA, B. M. *Indian J. M. Research*, 1928, 63:493.
MIYAKE, H. *Mitt. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir.*, 1899-1900, 5:231.
MOOSER, H. *J. Exper. M.*, 1924, 39:589; 1925, 42:539.
NOGUCHI, H. *The Newer Knowledge of Bacteriology and Immunology*, Chicago, 1928, p. 497.
PARMANAND, M. J. *Indian J. M. Research*, 1925, 12:609.
RHEES, H. *J. Bacteriol.*, 1932, 23:211.
ROBERTSON, A. *Ann. Trop. M. & Parasitol.*, 1930, 24:367.
RUGE, H. Rattenbissfieber. In Mense's *Handb. d. Tropenkrankheiten*, 1929, 5 (Part I):621.
SCHOTTMÜLLER, H. *Dermat. Wchnschr.*, 1914, 58:77.
SOLOMON, H., BERK, A., THEILER, M., and CLAY, C. L. *Arch. Int. Med.*, 1926, 38:391.
STÜHMER, A. *Arch. f. Dermat. u. Syph.*, 1929, 158:98.
WATKINS, C. G. *J. Pediat.*, 1946, 28:429.
WILCOX, W. *Am. J. M. Sc.*, 1840, 26:245.
ZUELZER, M. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt., 1920, 85:154.

PARTE V

ORGANISMOS DEL GRUPO DE LA PLEURONEUMONIA

CAPITULO L

ORGANISMOS DE LA PLEURONEUMONIA

El primer miembro de este grupo de organismos fué aislado en 1898 por Nocard y colaboradores en casos de enfermedad infecciosa del ganado bovino, conocida como pleuroneumonía. Las observaciones de Nocard fueron confirmadas en 1910 por Bordet y por Borrel y colaboradores, quienes identificaron la forma microscópica del organismo. Ninguno de los otros miembros del grupo produce neumonía o pleuresía, pero el nombre "pleuroneumonoides" se emplea para indicar su semejanza morfológica y de cultivo con los organismos originales de la pleuroneumonía.

El segundo miembro de este grupo de organismos es patógeno para las cabras; produce una enfermedad conocida como *agalactia* (Bridré y Donatien, 1925). Shoetensack (1934) cultivó organismos del tipo pleuroneumónico de perros con moquillo, pero no presentó pruebas convincentes de su poder patógeno.

Klieneberger, en 1935, aisló cepas típicas de organismos del tipo de la pleuroneumonía, de ratas y de cultivos de *Streptobacillus moniliformis (Actinomyces muris ratti)*. Laidlaw y Elford (1936) obtuvieron especies saprófitas de las alcantarillas y Seiffert (1937) encontró organismos en la tierra abonada y en el estiércol.

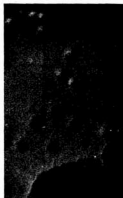


FIG. 132. ORGANISMOS PLEURONEUMONOIDES.

Colonias bien desarrolladas creciendo en una placa de agar-ascitis que había sido sembrada con pus del oído medio de una rata. × 60. (Según Dienes, *J. Bacteriol.*, 1945, 50:441.)

Sabin (1938) y Findlay y colaboradores (1938) aislaron cepas de ratones con síntomas neurológicos y artríticos y reprodujeron la enfermedad por inoculación de los cultivos a ratones normales.

Los organismos del tipo del de la pleuroneumonía han sido aislados de las vías genitales de la mujer por Dienes (1940-45), de la uretra masculina por Smith (1942) y Beveridge (1943) y de la sangre de un paciente con endocarditis bacteriana subaguda (Herschberger, Dantes y Shwartzman, 1945).

Estas formas microscópicas de vida parecen ocupar una posición intermedia entre las bacterias ordinarias y los virus. Aunque semejan a ciertos virus por tener unidades reproductivas filtrables, el desarrollo tiene lugar sobre medios inanimados, con formación de colonias diminutas, casi microscópicas (fig. 132). Algunos tipos crecen intracelularmente como las *Rickettsia*. Si estos organismos no hubieran sido cultivados sobre medios artificiales, es indudable que el organismo original de la pleuroneumonía debería ser clasificado ahora con los virus. Klieneberger (1940-42) cree que las formas pleuroneumonoides son organismos independientes que viven normalmente en simbiosis con ciertas bacterias, como *Streptobacillus moniliformis (Actinomyces muris ratti)*. La mayor parte de los investigadores los



Fig. 133.



Fig. 134.

Fig. 133. Organismos pleuroneumonoides.

Colonia obtenida del cuello uterino creciendo en agar-ascitis. Los cuerpos obscuros grandes contienen unidades reproductoras semejantes a las que se ven en la figura 134. Las vesículas vacías están producidas por vacuolización de los cuerpos grandes. × 900. (Según Dienes, *J. Bacteriol.*, 1945, 50:441.)

Fig. 134. Organismos pleuroneumonoides.

Cuerpos grandes encontrados cerca de los bordes de dos colonias vecinas. Los cuerpos grandes están llenos de gránulos teñidos de color obscuro, rodeado cada uno por una zona poco teñida. Coloración de Giemsa, después de fijación del agar. × 3 000. (Según Dienes, *J. Bacteriol.*, 1945, 50:441.)

consideran, sin embargo, como formas de crecimiento o variantes análogas a las colonias de tipo G de Hadley (Dienes, 1939b, 1945-47; Dawson y Hobby, 1939; Heilman, 1941; Smith, 1941; Brown y Nunemaker, 1942; Oerskov, 1942). Sabin no expresó su propia opinión en su revisión de 1941. Algunos, pero no todos, los organismos del tipo de la pleuroneumonía han revertido a los organismos bacilares grandes originales, de los cuales derivaron, al parecer. Debe recordarse que no todas las formas R de las bacterias ordinarias pueden convertirse en las formas S originales; ello indica que las variantes pueden llegar a establecerse como tipos relativa

o absolutamente fijos. Esta discusión es muy pertinente, ya que sugiere la posibilidad de que algunos virus puedan haber evolucionado, a través de un estado intermedio, análogo al de los organismos pleuroneumonoides, antes de convertirse en parásitos obligados.

Morfología y tinción. Aunque los organismos pleuroneumonoides crecen difusamente en caldo y forman colonias definidas en agar-suero o agar-ascitis, no pueden estudiarse por los métodos bacteriológicos corrientes a causa del tamaño diminuto de las colonias, la delicadeza y plasticidad de las células y su poca afinidad tintorial.

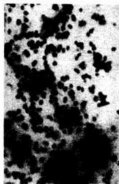


Fig. 135.

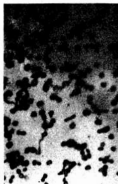


Fig. 136.

Fig. 135. Organismos pleuroneumonoides.

De colonias jóvenes algo alteradas y teñidas según método de Giemsa después de la fijación del agar. × 3 000. (Según Dienes, *J. Bacteriol.*, 1945, 50:441.)

Fig. 136. Organismos pleuroneumonoides.

De una cepa humana cultivada en caldo y teñida con coloración de Giemsa. Obsérvense los organismos anulares ligeramente alargados y algunas formas bipolares típicas en forma de bastón. Los filamentos son artefactos. × 3 000. (Según Dienes, *J. Bacteriol.*, 1945, 50:441.)

Las colonias son mamelonadas, con centro denso y periferia flecosa (fig. 132). Los organismos, en el centro de las colonias, crecen hacia abajo dentro del medio; los flecos se desarrollan de manera relativamente plana en la superficie (Dienes, 1945). Las colonias varían en tamaño desde 10 a 600 μ; rara vez son suficientemente grandes para verse a simple vista. Por lo general deben emplearse lupas o el objetivo del microscopio de 16 mm (Sabin, 1941). Las imágenes más claras se obtienen quitando el condensador y reflejando una luz azul con el espejo cóncavo en ángulo para dar iluminación oblicua (Sabin, 1941).

Las colonias presentadas en la figura 132 han sido amplificadas 60 veces; la aislada de la figura 133, 900 veces. A mayores aumentos, se ven en la periferia de la colonia cuerpos globoides obscuros, de 10 a 50 μ de diámetro alternando con

vacuolas claras de aproximadamente igual tamaño y forma. Cuando se amplifican 3 000 veces, se encuentra que los cuerpos obscuros contienen las unidades reproductivas elementales, gránulos coloreados en obscuro rodeados por zonas más claras (fig. 134).

Dienes (1945) y Klieneberger y Smiles (1942) han ideado técnicas especiales para estudiar los organismos en las colonias. Se ven gránulos diminutos, de 0,33 a 0,5 μ de diámetro, y bacilos finos que muestran con frecuencia tensión bipolar (fig. 135). En otras preparaciones predominan las formas anulares redondas u ovales pálidas (fig. 136). Las formas anulares, al parecer se desarrollan de las formas bacilares y pueden continuar creciendo hasta llegar a ser grandes cuerpos globoides. Las formas filamentosas finas, que se ven en la figura 136, son artefactos producidos por estiramiento de los cuerpos ovales al hacer la preparación. Estos filamentos semejan a los seudoflagelos encontrados en los cultivos de *Past. tularensis* (pág. 535). Sin embargo, se producen verdaderos filamentos cuando se desarrollan hacia el interior del agar y se disgregan en gránulos, los cuales a su vez se desarrollan en cuerpos grandes. En los cultivos de cepas bovinas y caprinas de organismos de la pleuroneumonía se ven con frecuencia filamentos, ramificados o no (Borrel y col., 1910; Ledingham, 1933).

Se ha observado la germinación multipolar de pequeños cuerpos redondos que explican en parte la ramificación aparente (Borrel y col., 1910; Turner, 1935; Klieneberger y Smiles, 1942; Dienes, 1945). Por este tipo de ramificación Borrel y col. sugirieron el nombre genérico de *Asterococcus* para el grupo pleuroneumonía.

Métodos de tinción. Dienes (1939) ha descrito el montaje de una preparación húmeda simple para estudiar los organismos aislados. Se evapora sobre cubreobjetos una solución de azul de metileno y azur. Se corta de la placa un pequeño cuadrado de agar que contenga colonias aisladas, se pasa a un portaobjetos y se cubre con el cubreobjetos previamente preparado. Los organismos se tiñen fácilmente y pueden ser examinados casi inmediatamente después de sellar los bordes de la preparación con parafina para evitar la evaporación.

Para montajes permanentes, el método de fijación del agar de Klieneberger (1942) da muy buen resultado. Se separa de la placa un cuadrado de agar que contenga colonias de los microorganismos y se invierte sobre un cubreobjetos limpio. El agar y las colonias intactas se fijan cubriendo la preparación con líquido de Bouin, solución de Zenker o mezcla de ácido fosfórico y formol. Cuando se separa el agar después de la fijación, gran parte de la colonia permanece en el cubreobjetos y los organismos no están tan alterados como los que se ven en las preparaciones por impresión no fijadas. La coloración más clara se obtiene con safranina o violeta de metilo, pero la coloración de Giemsa suele mostrar más detalles de la estructura interna de las formas más grandes. Dienes y Smith (1944) sugieren que los organismos pueden ser cultivados sobre cubreobjetos cubiertos con una película de agar-suero o agar-ascitis. Las colonias se fijan y tiñen *in situ*. Todos los lavados se hacen en una solución que contiene aproximadamente 0,4% de ClNa y 0,1 por ciento de PO_4KH_2, ajustada a pH 7,2, a la cual se añade glucosa suficiente para lograr concentración de 5% y bastante líquido de ascitis para dilución final de 1:20. Después se tiñen las preparaciones sobre los cubreobjetos, se cubren con una solución consistente en un volumen de líquido de ascitis y siete volúmenes de agua con 5 por ciento de glucosa. Entonces se colocan los cubreobjetos con el lado teñido hacia abajo sobre un porta limpio de manera que un ángulo del cubreobjetos sobresalga del borde del portaobjetos. Después de secar con papel de filtro para quitar el exceso de líquido, se retira el cubreobjetos levantándolo suavemente por el ángulo que rebasa el borde del portaobjetos. La mayor parte del cultivo teñido se queda sobre el portaobjetos y se seca casi inmediatamente; el líquido de ascitis y la glucosa parecen proteger a los organismos de la deformación.

Características de cultivo. El agar o el caldo de corazón peptonado debe ser enriquecido con 20 a 40 por ciento de suero o líquido de ascitis y ajustado a pH 7,6

a 8,0 para desarrollo de cepas animales de organismos pleuroneumonoides. Los tipos saprófitos pueden crecer en presencia de sólo 4 a 5 por ciento de suero. Algunos investigadores han añadido al medio básico sangre calentada; otros, el 0,5 por ciento de glucosa, pero ésta debe usarse con precaución porque un aumento de acidez hasta pH 7,0 suele matar a los organismos. La temperatura óptima para cepas animales y del hombre es la de 37° C., pero las cepas saprófitas de las alcantarillas y del estiércol crecen mejor a 22° C.

El caldo-suero bovino ha sido usado por Nocard y sus colaboradores; el desarrollo se descubre por enturbiamiento del medio. Estos investigadores no observaron los organismos separados en el caldo enturbiado, pero demostraron su presencia por transmisión de la enfermedad a terneros.

Cuando el caldo-suero se siembra con exudados o tejidos infectados que por sí mismos enturbian el medio, es necesario transferir 0,1 a 0,2 c.c. del caldo a medios nuevos en los días cuarto y séptimo de incubación (Sabin, 1941). Aun cuando el caldo-suero siga claro deben hacerse los subcultivos los días cuarto y séptimo ya que a veces aparece desarrollo evidente solamente después de varias semanas de tales "pasos ciegos". Cuando las cepas arraigan en el caldo-suero suele aparecer el enturbiamiento del medio en 24 a 48 horas. Los contaminantes bacterianos ordinarios se descubren por la tinción de Gram; los organismos de la pleuroneumonía, por la coloración de Giemsa (Sabin, 1941). Para demostrar las colonias, se aconseja subcultivar el caldo-suero sobre agar al cual se haya añadido el mismo tipo de suero. Las cepas pueden llegar a acostumbrarse a suero de tipo determinado y desarrollarse pobremente, o no hacerlo en absoluto en sueros de otros animales. La mayor parte de las cepas humanas han sido aisladas y conservadas en medios que contenían líquido de ascitis humana.

Al aislar los organismos pleuroneumonoides de las colonias de *H. influenzae* o *E. coli*, Dienes (1945) ha observado que solamente pueden producir colonias de organismos de tipo pleuroneumonía las cepas de bacterias que presentan reproducción de cuerpo globoide o grande. Debe hacerse notar que este tipo de organismo no se puede cultivar de todas las bacterias que presentan tal tipo de reproducción.

Dienes, en 1947, describió un nuevo método de aislar estos organismos de los cultivos de *H. influenzae*. Se siembran las bacterias en masa sobre placas de agar-sangre y se hacen una o más muescas superficiales en el agar, sin cortar el medio. En cada muesca se introduce una gota de solución que contenga 2 000 unidades de penicilina por c.c. En la periferia de las placas se hacen siembras con *Serratia marcescens*, después se cierran perfectamente con parafina y se incuban, unas a 30° C. y otras a 37° C. Las placas se abren después de tres o cuatro días y se examinan las zonas alrededor de la muesca con una lupa o al microscopio para buscar la aparición de colonias de organismos pleuroneumonoides. Hay una inhibición completa del desarrollo bacteriano en dos o tres mm alrededor de la muesca; más allá se encuentran los bacilos que crecen como filamentos, y, más afuera todavía, como *H. influenzae* normales.

Obtenidas de cultivos en caldo o por siembra directa en placas, las colonias de los organismos pleuroneumonoides se transfieren a nuevas placas de medios sólidos, separando un cuadrado de agar que contenga colonias, invirtiéndolo sobre la placa y distribuyendo los organismos por deslizamiento del cuadrado de agar sobre la superficie del medio. La superficie del agar se debe conservar húmeda, insertando en la tapa de la placa de Petri papel de filtro humedecido con agua.

Cuando en los medios sólidos aparecen diferentes tipos de colonia es prudente subcultivar cada colonia por separado. Con esta técnica, Sabin y Johnson (1940)

aislaron tres tipos inmunológicos distintos de organismos de la pleuroneumonía de un cultivo obtenido originalmente de las secreciones nasales de un ratón.

En ciertas clases de agar-suero aparecen *seudocolonias* que tienen el aspecto general grosero de las colonias del tipo pleuroneumónico, pero no contienen organismos tingibles y, en consecuencia, no se desarrollan cuando se transfieren a caldo-suero (Brown, Swift y Watson, 1940).

Interesa demostrar la filtrabilidad a través de membranas de gradocol o filtros Berkefeld, impermeables para *Serratia marcescens*, antes de designar a un nuevo organismo como pleuroneumonoide (Sabin, 1941).

Resistencia. Los organismos pleuroneumonoides de las cabras mueren en treinta días cuando se guardan en caldo-suero a 37° C. Sin embargo, si se desarrollan en medio aerobio y después se cierran con vaselina, los organismos permanecen viables durante 22 meses a 37° C., pero menos de cinco meses a 0°, 6°, 12° y 25° C., y se pueden conservar por liofilización en los tejidos infectados (Sabin, 1941).

Los microorganismos de la agalactia mueren a 50° C. en dos horas y a 53° C. en diez minutos. La mayor parte de los otros organismos de este tipo se destruyen a 45° C. en 15 minutos.

Metabolitos bacterianos. Lo poco que se conoce acerca de las actividades metabólicas de los organismos pleuroneumonoides ha sido revisado por Sabin (1941).

Los organismos pleuroneumónicos del ganado bovino producen una toxina soluble que causa caquexia y muerte en conejos (Nocard y col., 1898). La toxina, sin embargo, no fué estudiada en detalle para saber si era endotoxina o exotoxina.

Sabin (1938a y b) ha demostrado que los microorganismos tipo A de los ratones producen una verdadera exotoxina, lo mismo en los cultivos que en el cuerpo animal. Esta toxina es elaborada por los organismos que crecen en el citoplasma de las células mesoteliales del peritoneo y de la pleura y, después de la absorción, produce lesiones características en el cerebro. En los cultivos se produce durante el primer período de desarrollo, se destruye a 50° C. en 30 minutos, es antigénica y puede ser neutralizada cuantitativamente por la antitoxina específica.

No se han demostrado toxinas en otros tipos de organismos pleuroneumonoides de ratones o ratas (Sabin, 1941).

Estructura antigénica. Los conejos inmunizados con organismos de pleuroneumonía y pleuroneumonoides producen aglutininas, anticuerpos fijadores del complemento y anticuerpos protectores.

Todas las cepas de las infecciones bovinas al parecer son idénticas y no dan reacciones cruzadas con otros organismos pleuroneumonoides (Tang y col., 1935; Klieneberger, 1938).

Las cepas aisladas de las cabras forman también un grupo inmunológico (Sabin, 1941).

Klieneberger (1940) encontró que las cepas de los perros podían ser divididas en dos tipos serológicos que aparentemente poseen antígenos menores en común con cepas aisladas de las ratas y ratones.

Sabin (1941) ha identificado tres tipos serológicos entre las cepas de la rata y cinco entre las aisladas de ratones.

Las cepas saprófitas de Inglaterra y Alemania pudieron ser clasificadas en tipos A, B y C, con antígenos comunes en A y B. Los antisueros para las cepas saprófitas no aglutinaron la cepa de la rata L_4, pero un antisuero para la L_4 aglutinó a las cepas saprófitas en diluciones de 1:10 ó 1:20 (Klieneberger, 1940).

Enfermedad espontánea en animales. La pleuroneumonía bovina es una enfermedad altamente infecciosa que se extiende rápidamente por los rebaños de

animales y deja inmunes a los demás. El agente infeccioso se presenta en los exudados serosos de la pleura y articulaciones infectadas, pero la inyección subcutánea de tales exudados a los animales normales no origina pleuroneumonía. Los animales desarrollan lesiones inflamatorias locales y pueden morir por caquexia. Los que se restablecen quedan inmunes, lo mismo para la reinoculación que para la enfermedad espontánea. Meyer (1908) estudió una cepa que producía regularmente poliartritis en los terneros, cuando se les inyectaba linfa de las articulaciones infectadas en el tejido subcutáneo de la colá, pero los organismos cultivados no causaban tal localización selectiva. Todos los demás animales, incluyendo al hombre, parecen completamente resistentes a la infección con exudados originales y cultivos desarrollados en sueros bovinos. Dujardin-Beaumetz (1906), ha publicado, sin embargo, que los cultivos obtenidos en suero de caballo o de carnero llegan a ser altamente infecciosos para ovejas y cabras, pero no para otros animales.

Se ha supuesto que la enfermedad se contagiaba de un animal a otro por gotitas.

Con excepción de América del Norte, oeste de Europa e India (Walker, 1930), la pleuroneumonía existe en forma endémica en el ganado bovino de todo el mundo. La enfermedad apareció en Estados Unidos en 1843, pero fué eliminada con gran dificultad.

Agalactia de ovejas y cabras. Un organismo similar al de la pleuroneumonía, aislado de casos de agalactia, produce una infección generalizada en ovejas y cabras, con lesiones localizadas en piel, ojos, articulaciones, ubres de las hembras y escrotos de los machos. Algunos animales mueren al principio, antes que aparezcan lesiones locales. En las hembras lactantes, las ubres se hinchan, se hacen nodulares y finalmente atróficas. Los microorganismos pueden aislarse de la sangre en los primeros días de la enfermedad; después, de las secreciones lagrimales, leche y exudados articulares. Tanto los exudados como los cultivos reproducen la enfermedad si se inyectan intravenosa, subcutánea, intracutánea o intraarticularmente.

Esta infección parece estar limitada a las regiones montañosas de Italia, Francia y Suiza, aparte de algún foco aislado en Argelia (Sabin, 1941).

Infecciones por organismos pleuroneumonoides en perros. Shoetensack, trabajando en el Japón, aisló, en 1934, de perros afectos de una enfermedad parecida al moquillo, un organismo pleuroneumonoide que denominó *Asterococcus canis*. Este organismo pertenece definidamente al grupo pleuroneumonía (Klieneberger, 1938), pero es dudoso si solamente es un invasor secundario en casos de moquillo canino o si representa un nuevo agente etiológico causante de enfermedad del tipo moquillo.

Organismos pleuroneumonoides en ratas. Las ratas llevan en su nasofaringe *Streptobacillus moniliformis (Actinomyces muris ratti)*, del cual se puede aislar con regularidad el organismo pleuroneumonoide patógeno para ratas o ratones (Sabin, 1941).

Klieneberger y Steabben (1937-40) aislaron otro microorganismo, distinto serológicamente, de los pulmones de ratas viejas que sufrían *bronconeumonía* o *bronquiectasia*. Este organismo, designado L_3, no era patógeno para las ratas.

El organismo pleuroneumonoide L_4, aislado en 1938 por Klieneberger de abscesos subcutáneos en las ratas, causa abscesos subagudos y poliartritis en ratas y ratones (Woglom y Warren, 1939; Collier, 1939; Findlay y col., 1939, y Sabin, 1941).

Durante este tiempo en que han merecido gran interés los organismos pleuroneumonoides, los investigadores pasaron por alto el trabajo anterior de Smith y

colaboradores (1930), quienes demostraron que la simbiosis de un coco microaerófilo y un bacilo aerobio era causa de *bronconeumonia* y *bronquiectasia* espontáneas en las ratas viejas.

Organismos pleuroneumonoides de ratones. Los ratones alojan cierto número de tipos inmunológicamente distintos de organismos pleuroneumonoides, clasificados como tipos A, B, C, D y E por Sabin (1941). Los ratones también pueden albergar, por lo menos temporalmente, los tipos de organismos de las ratas. Las infecciones con el tipo A producen lesiones en el cerebro; los tipos B, C, D y E provocan poliartritis en los ratones.

Enfermedad experimental en animales de laboratorio. Los organismos del tipo del de la pleuroneumonía, solamente son infecciosos para las especies de las cuales son aislados, con la única excepción de los que adquieren la facultad de invadir las ovejas y las cabras cuando se desarrollan en sueros de caballo y oveja (Dujardin-Beaumetz, 1906).

Embriones de pollo. Los organismos crecen en la membrana corioalantoidea de embriones de pollo, pero no invaden los órganos internos (Tang y col., 1936). Algunos tipos no se desarrollarán en las membranas de los embriones vivos, pero crecen rápidamente si se mata primero al embrión por exposición a 4° C. (Sullivan y Dienes, 1939). Los mismos autores observaron desarrollo en solución de Tyrode con embrión de pollo desmenuzado y sobre agar Tyrode-embrión (Zinsser y col., 1939). Sabin (1941) ha observado la multiplicación intracelular del microorganismo tipo B del ratón cuando se desarrolla en el tejido de embrión de ratón desmenuzado en solución de Tyrode.

Tipos clínicos de infección en el hombre. La aparición frecuente de poliartritis en ovejas y cabras infectadas y el aislamiento de cepas de los ratones que parecen tener una predilección por las articulaciones, sugirieron la posibilidad de que organismos pleuroneumonoides fuesen causa de reumatismo en el hombre. Por desgracia, todos los intentos para aislar estos organismos de las articulaciones de pacientes con artritis reumatoide y fiebre reumática han fracasado (Swift y Brown, 1939; Sabin y Johnson, 1940; Preston, 1942).

Organismos de este tipo han sido aislados de mujeres con infecciones pelvianas crónicas (Dienes y Edsall, 1937; Dienes, 1940) y hombres con uretritis no específicas (Smith, 1942; Dienes y Smith, 1942; Beveridge, 1943), pero no hay pruebas de que los organismos tuvieran significación etiológica.

La posibilidad de que el *síndrome de Reiter* (Rosenblum, 1945; Vallee, 1946) pudiera ser causado por estos organismos ha sido investigada por Wallerstein y colaboradores (1946). El síndrome está caracterizado por conjuntivitis, uretritis no específica y artritis, y en ocasiones lesiones cutáneas. Algunos de los pacientes masculinos de los cuales Smith (1942) y Dienes y Smith (1942) aislaron organismos pleuroneumonoides, tenían una combinación de artritis y uretritis y pudieron haber sido causa de síndrome de Reiter. Wallerstein y colaboradores (1946) usaron un antígeno preparado del desarrollo en superficie de organismos pleuroneumonoides que Herschberger y colaboradores (1945) cultivaron de la sangre de un paciente con endocarditis bacteriana subaguda. Los sueros de diversos pacientes con síndrome de Reiter aglutinaron a este organismo en títulos de 1:32 a 1:128, mientras que un centenar de testigos fueron negativos o presentaron títulos no mayores de 1:16.

Tratamiento. El suero inmune es eficaz para prevenir la infección en animales, pero tiene poca o nula acción curativa cuando ya han aparecido los síntomas (Sabin, 1941).

Las *sulfonamidas* son ineficaces; el *estovarsol* y otros compuestos arsenicales tienen influencia favorable, y los *compuestos orgánicos de oro*, particularmente el *aurotiomalato cálcico*, curan la poliartritis en los ratones (Sabin, 1941).

Prevención. Los cultivos de organismos de la pleuroneumonía de los bóvidos, atenuados por el cultivo prolongado sobre medios artificiales, han resultado inmunizantes eficaces en Rodesia (Purchase, 1939), pero no en China, aunque los cultivos virulentos fueron eficaces (Kurotchkin, 1939).

Las cepas más virulentas de cabras y ovejas reproducen la enfermedad cuando se utilizan como vacunas vivas; las cepas muertas o atenuadas no inmunizan (Bridré y Donatien, 1925). Las suspensiones de cepas murinas tipo B muertas por el calor, protegieron a los ratones normales de las infecciones experimentales (Sabin y Morgan, 1940).

BIBLIOGRAFIA

Beveridge, W. I. B. *Med. J. Australia*, 1943, 12:479.
Bordet, J. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1910, 24:161.
Borrel, P., Dujardin-Beaumetz, E., Jeantet, and Jouan. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1910, 24:168.
Bridré, J., and Donatien, A. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1925, 39:925.
Brown, T. M., Swift, H. F., and Watson, R. F. *J. Bacteriol.*, 1940, 40:857.
——— and Nunemaker, J. C. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1942, 70:201.
Collier, W. A. *J. Path. & Bacteriol.*, 1939, 48:579.
Dawson, M. H., and Hobby, G. L. Third Intern. Congr. Microbiol. Abstracts and Communications, 1939, p. 177.
Dienes, L. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1940, 44:468.
——— *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1947, 64:166.
——— *J. Infect. Dis.*, 1939, 65:24.
——— *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1939, 42:773.
——— *J. Bacteriol.*, 1945, 50:441.
——— and Smith, W. E. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1942, 50:99.
——— and Edsall, G. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1937, 36:740.
——— and Smith, W. E. *J. Bacteriol.*, 1944, 48:125.
Dujardin-Beaumetz, E. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1906, 20:449.
Edwards, D. G. *J. Path. & Bacteriol.*, 1947, 59:209.
Findlay, G. M., Mackenzie, R. D., MacCallum, F. O., and Klieneberger, E. *Lancet*, 1939, 2:7.
———, Mackenzie, R. D., MacCallum, F. O., and Klieneberger, E. *Lancet*, 1938, 2:1511.
Heilman, F. R. *J. Infect. Dis.*, 1941, 69:32.
Herschberger, C., Dantes, D. A., and Shwartzman, G. *J. Mt. Sinai Hosp.*, 1945, 12:295.
Klieneberger, E. *J. Path. & Bacteriol.*, 1935, 40:93.
——— *J. Hyg.*, 1942, 42:480; 1938, 38:458; 1940, 40:204.
——— and Steabben, D. B. *J. Hyg.*, 1940, 40:223; 1937, 37:143.
——— and Smiles, J. *J. Hyg.*, 1942, 42:110.
Kurotchkin, T. J. Third Intern. Congr. Microbiology, Abstracts and Commun., 1939, p. 179.
Laidlaw, P. P., and Elford, W. J. *Proc. Roy Soc.* (London), 1936, B. 120:292.
Ledingham, J. C. G. *J. Path. & Bacteriol.*, 1933, 37:393.
Meyer, K. F. Trans. Dept. Agr. Govt. Vet. Bacteriologist for 1908-1909, Pretoria, p. 159.
Nocard, Roux, Borrel, Salimbeniet, and Dujardin-Beaumetz. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1898, 12:240.
Nowak, J. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1929, 43:1330.
Oerskov, J. *Arch. Path. Microbiol.*, 1942, 10:579.
Preston, W. S. *J. Infect. Dis.*, 1942, 70:181.
Purchase, H. S. *Vet. Record*, 51:31, 67. Quoted from Abstract in *Vet. Bull.*, 1939, 9:705.
Rosenblum, H. H. *U. S. Naval Med. Bull.*, 1945, 44:375.
Sabin, A. B. *Science*, 1938, 88:575.
——— *Bacteriol. Reviews*, 1941, 5:1.
——— and Johnson, B. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1940, 44:565, 569.
——— and Morgan, I. M. *Arch. Path.*, 1940, 29:735.
Salaman, M. H. *Brit. J. Ven. Dis.*, 1946, 22:47.
Seiffert, G. *Zentr. Bakt. u. Parasitenk.*, I Abt., Orig., 1937, 140:168.
Shoetensack, H. M. *Kitasato Arch. Exp. Med.*, 1936, 13:175, 269; 1934, 11:277.
Smith, D. T., Bethune, N., and Wilson, J. L. *J. Bacteriol.*, 1930, 20:361.
Smith, W. *J. Path. & Bacteriol.*, 1941, 53:29.
Smith, W. E. *J. Bacteriol.*, 1942, 43:83. Abstract.
Sullivan, E. R., and Dienes, L. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1939, 41:620.

SWIFT, H. E., and BROWN, T. M. *Science*, 1939, 89:271.
TANG, F. F., WEI, H., and EDGAR, J. *J. Path. & Bacteriol.*, 1936, 42:45.
———, WEI, H., MCWHIRTER, D. L., and EDGAR, J. *J. Path. & Bacteriol.*, 1935, 40:391.
TURNER, A. W. *J. Path. & Bacteriol.*, 1935, 41:1.
TYZZER, E. E. *Proc. Am. Philos. Soc.*, 1942, 85:359.
VALLEE, B. L. *Arch. Int. Med.*, 1946, 77:295.
WALKER, J. *A System of Bacteriology in Relation to Medicine*, Medical Research Council, 1930, 7:322, London.
WALLERSTEIN, R., VALLEE, B. L., and TURNER, L. *J. Infect. Dis.*, 1946, 79:134.
WEINMAN, D. *Trans. Am. Philosophical Soc.*, 1944, 33:243, Part. III.
WOGLAM, W. H., and WARREN, J. *J. Exper. M.*, 1938, 68:513.
——— and WARREN, J. *J. Hyg.*, 1939, 39:266.
ZINSSER, H., FITZPATRICK, F., and WEI, H. *J. Exper. M.*, 1939, 69:179.

PARTE VI

RICKETTSIAS Y RICKETTSIOSIS

CAPITULO LI

RICKETTSIAS

Durante siglos la forma epidémica de tifus transmitida por los piojos ha sido uno de los grandes verdugos de la humanidad, especialmente como consecuencia de la guerra, en que la enfermedad atacaba con el frío y el hambre. Se observaba con mayor frecuencia entre las personas forzadas a emigrar en gran número y en condiciones que hacían imposible la higiene personal.

El tifus, después de la disentería, probablemente ha sido la enfermedad que mayor influencia ha ejercido sobre la estrategia militar. La retirada de Moscú, de Napoleón, "fué iniciada por un piojo" (Zinsser, 1935), y es bien sabido que en la primera Guerra Mundial los Estados centroeuropeos renunciaron al intento de invadir Serbia por la aparición del tifus en ese país. El tifus y sus efectos en la historia del mundo han sido tratados en forma fascinante en los libros de Zinsser (1935) y Holmes (1940).

El nombre genérico *Rickettsia* fué sugerido por Da Rocha Lima (1916) en honor del Dr. Howard Taylor Ricketts, quien, a la edad de 39 años, murió de tifus en la ciudad de México, durante sus investigaciones acerca de la enfermedad. Ricketts, en 1909, encontró cuerpos bacilares en la sangre de pacientes con fiebre manchada de las Montañas Rocosas; en 1910, junto con Wilder, describió organismos similares en los frotis de sangre de pacientes y en frotis de piojos alimentados sobre enfermos de tifus. El nombre específico *prowazekii*, para la *Rickettsia* causante del tifus, fué también sugerido por Da Rocha Lima en honor de von Prowazek (1915), otro mártir de la enfermedad, que llevaba a cabo sus investigaciones en Serbia en 1913.

Aunque las rickettsias son visibles con el microscopio, se parecen a los virus en que requieren células vivas para desarrollarse, y algunos de los organismos son filtrables. En general, las rickettsiosis son transmitidas por artrópodos; las medidas de profilaxis más importantes son las que van dirigidas contra los transmisores específicos. Sin embargo, ciertas epidemias de fiebre Q han ocurrido en ausencia de todo artrópodo vector; y Pollard y colaboradores (1946) han observado tifus murino en un voluntario que ingirió gran cantidad de *Rickettsia typhi* desarrollada en el saco vitelino del embrión de pollo.

Las rickettsiosis incluyen el tifus epidémico y endémico (murino), la fiebre manchada, fiebre tsutsugamushi (tifus *scrub)*, fiebre Q, tifus vesicular y probablemente la fiebre de Bullis y la de las trincheras, cada uno de los cuales será tratado por separado.

El criterio más importante que distingue las rickettsias patógenas de las bacterias es que las primeras no crecen en ausencia de células vivas. Poco tiempo después

de la demostración de los organismos en algunos de los artrópodos vectores de tifus, se examinaron cierto número de artrópodos y se encontraron en ellos organismos morfológicamente semejantes a las rickettsias patógenas. Algunos eran intracelulares, otros extracelulares; muchos no fueron patógenos para los animales y, en la mayor parte de los casos, no parecían tener efecto perjudicial alguno sobre los tejidos del huésped artrópodo. Fué desacertado que el nombre genérico *Rickettsia* se aplicara a estos organismos basándose solamente en su semejanza morfológica con las formas patógenas (Pinkerton, 1942). Así, por ejemplo, *Rickettsia melophagy*, encontrada en el tracto intestinal de la garrapata de la oveja *(Melophagus ovinum)*, puede ser cultivado fácilmente sobre un medio de agar-sangre glucosado (Nöller, 1917).

Aquí solamente serán consideradas las rickettsias patógenas para el hombre y los animales.

Morfología y tinción. Las rickettsias son organismos bacilares pequeños o diplobacilos pleomórficos en tal grado que varían en forma y tamaño desde los de cocobacilos diminutos, apenas visibles, hasta filamentos más largo que a veces se aproximan al tamaño de los bacilos. La morfología de los organismos depende, en parte, de la naturaleza del material examinado. Es también importante observar si las rickettsias son extracelulares o intracelulares; en el último caso, si se encuentran dentro del núcleo o en el citoplasma. Todas las rickettsias son *gramnegativas*, pero esta tinción no se usa para identificarlas.

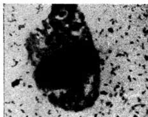


FIG. 137. R. PROWAZEKII DEL TIFUS.

De líquido peritoneal de una rata tratada por rayos X. Tinción de Castañeda. × 1 500.

Gran parte de los datos sobre morfología, tinción, reacciones de cultivo e inoculaciones al animal presentadas en este capítulo provienen de la revisión de Pinkerton (1942).

R. prowazekii, causa del tifus epidémico, suele encontrarse en forma de diminutos diplobacilos que miden alrededor de 0,6 μ de longitud y 0,3 μ de ancho (fig. 137). Las cadenas cortas son comunes; las cadenas largas, de unos 40 μ de longitud, pueden verse en el comienzo de las infecciones, en los cultivos de tejidos o en artrópodos. En las células muy infectadas, los organismos son mucho menores. A menos que se liberen por ruptura mecánica al hacer el frotis, los organismos son intracelulares y se presentan exclusivamente en el citoplasma. Son *inmóviles;* el estudio de organismos vivos sólo demuestra movimiento browniano dentro de las vacuolas líquidas. Cuando se colorean por el método de Machiavello, las rickettsias se tiñen en rojo y se distinguen fácilmente del citoplasma teñido en azul de las células infectadas. Con la tinción de Giemsa los organismos son azules o púrpura.

R. typhi (R. mooseri), causa del tifus murino, no se puede distinguir de *R. prowazekii*, ni morfológicamente, ni por sus reacciones tintóreas.

R. rickettsii (Dermacentroxenus rickettsi), causa de la fiebre manchada, en ciertos materiales se parece morfológicamente a *R. prowazekii*, excepto en que las formas pareadas son más puntiagudas, semejando neumococos diminutos (Wolbach, 1919). En cultivos de tejidos se han encontrado formas largas, como los neumococos. Los

organismos se encuentran de manera característica en el núcleo, pero el citoplasma también está infectado; sólo rara vez aparecen en el núcleo formas lanceoladas grandes (Pinkerton y Hass, 1932). Los organismos se pueden teñir por los métodos de Giemsa y Machiavello; pero Pinkerton (1942) ha propuesto algunas modificaciones que según él dan una diferenciación más neta.

R. tsutsugamushi (R. orientalis, R. nipponica), causa de la fiebre tsutsugamushi o tifus *scrub*, lo mismo que *R. prowazekii* y *R. typhi*, aparece como un diplobacilo y toma coloración bipolar cuando se usa el método de Giemsa (Lewthwaite y Savoor, 1936). Su tamaño varía entre 0,8 a 2,0 μ de longitud y 0,3 a 0,5 μ de ancho. Los organismos están en el citoplasma, pero tienden a agruparse cerca del núcleo.

R. burneti (R. diaporica), agente causal de la fiebre Q, se parece a *R. prowazekii* y *R. typhi* y parece desarrollarse lo mismo intracelular que extracelularmente, con tendencia a formar racimos en el citoplasma. Estos se tiñen más profundamente que las otras rickettsias.

R. wolhynica (R. quintana), causa probable de la fiebre de las trincheras de la primera Guerra Mundial, se parece a *R. prowazekii*, excepto en que se describe como más intensamente teñida y de forma más oval (Pinkerton, 1942).

Un organismo del tipo de las rickettsias ha sido aislado de casos de "fiebre de Bullis", así llamada por haber sido observada entre el personal del Ejército en el campo Bullis, de Texas, EE. UU. Los organismos, según se ven en los frotis de peritoneo parietal y de bazo de cobayos infectados, se describen como "pequeños bastones teñidos de rojo y cuerpos cocoides en el citoplasma y en el núcleo" (Livesay y Pollard, 1943).

Características de cultivo. La naturaleza parasitaria obligada de las rickettsias patógenas planteó muchas dificultades a los investigadores de las rickettsias y se idearon numerosos métodos ingeniosos con el fin de obtener cantidades suficientes de organismos para estudiarlos en el laboratorio. El medio de Maitland (solución de Tyrode con testículo o riñón fresco desmenuzado de conejo) fué utilizado como base de muchos de los primeros intentos.

R. prowazekii fué obtenida por Wolbach y colaboradores (1923) en cultivos de tejidos en plasma, pero Pinkerton y Hass (1932) lograron una producción mucho mejor usando el mismo medio e incubando los cultivos a 32° C. en lugar de 37,5° C. Nigg y Landsteiner (1930) obtuvieron buen desarrollo en un medio de Maitland modificado; Zinsser, Fitzpatrick y Wei (1939) lograron un adelanto considerable añadiendo agar a la mezcla de suero-solución de Tyrode y esparciendo células desmenuzadas de embrión de pollo o ratón sobre la superficie del medio inclinado.

El método de cultivo más práctico fué ideado por Cox (1938), quien inoculó material infeccioso directamente en el saco vitelino de huevos fértiles que habían sido incubados a 39° C. durante 5 ó 6 días. Después de la inoculación, los huevos se dejan a 32° C. Los embriones suelen morir hacia el tercero o cuarto día cuando se infectan con cepas de rickettsias de la fiebre manchada, tifus endémico y de la fiebre botonosa. *R. prowazekii* suele matar al embrión del quinto al séptimo día (Cox, 1940).

Las titulaciones demostraron que los sacos vitelinos contenían de 100 a 1 000 veces mayor cantidad de material infeccioso que los otros tejidos del embrión.

Resistencia. Las rickettsias suelen destruirse fácilmente por el calor y los agentes químicos ordinarios, pero, en algunos casos, es difícil valorar la resistencia real de los organismos a causa de su asociación íntima con las células del huésped. El calentamiento a 50° C. hace que los organismos pierdan su poder infectante lo mismo en la sangre que en emulsiones de tejidos. Los organismos mueren rápidamente conser-

vados en la incubadora o a la temperatura de la habitación. Así, Pinkerton (1942) demostró que la sangre de tifus desfibrinada se hacía no infectante en tres días a 37° C. y en menos de cuatro días a la temperatura de la habitación, pero en cultivos de Maitland herméticamente cerrados los organismos son viables durante varios meses a 37° C. (Nigg, 1935).

El tejido esplénico o cerebral de un cobayo infectado con *R. prowazekii* se puede conservar en un tubo perfectamente cerrado durante ocho meses a —20° C.

Según Topping (1940), diversas rickettsias se pueden preservar por liofilización si los órganos infectados se maceran y suspenden en leche desnatada estéril. El bazo infectado fué el mejor material para conservar *R. rickettsii* y *R. burneti*, el cerebro infectado para *R. prowazekii* y el líquido de lavado de testículos infectados para *R. typhi*. Las rickettsias preservadas por este método son viables, por lo menos durante cinco meses.

Pinkerton (1942) descubrió la pérdida de infecciosidad de la sangre de tifus y de las emulsiones en pocos días por desecación en condiciones ordinarias, y que *R. rickettsii* muere también en las mismas circunstancias. Blanc y Baltazard (1940), sin embargo, indicaron que las heces secas de pulgas infectadas con tifus murino retenían su infecciosidad por 651 días, como se comprobó por inoculaciones humanas. La posibilidad de que tal material desecado pueda contener rickettsias virulentas es muy interesante, especialmente en vista de la naturaleza peculiar del brote de fiebre Q habido en el National Institute of Health (Hornibrook y Nelson, 1940).

Las rickettsias pueden conservarse en glicerina, pero Pinkerton (1942) interpreta el hecho como resultado posible de la acción deshidratante de las células huésped. Las rickettsias se conservaron viables durante varios meses en tejidos de cobayos infectados de tifus, mantenidos en glicerina a 0° C.

Según Pinkerton (1942), las rickettsias se destruyen fácilmente por los agentes químicos. Heubner (1947), sin embargo, al referir el brote de fiebre Q en el National Institute of Health, afirmó haber observado que *R. burneti*, en las preparaciones de saco vitelino, permanecía viable por mucho tiempo, aun en suspensiones que contienen el 0,5 por ciento de formol, y creyó que el origen de esta epidemia como el de otras era atribuíble a materiales de saco vitelino.

La resistencia de las rickettsias a los colorantes y a otras substancias ha sido comprobada por diversos métodos, como el recuento de focos pulmonares en ratones inoculados por vía intranasal y la inyección intracutánea de conejos con *R. typhi* después de mezcladas *in vitro* con diversos colorantes (Andrewes y col., 1946). Estos autores probaron gran número de colorantes, de los cuales sólo los colorantes de tiacina, como el azul de metileno y el azul de toluidina, tenían cierta acción. Smadel y colaboradores (1947), usando el método del huevo, comprobaron que la nitroacridina 3582 y el rutenol eran rickettsiostáticos para *R. prowazekii*, *R. typhi*, *R. rickettsii* y *R. tsutsugamushi*. Smadel, Jackson y Gauld (1947) demostraron que la estreptomicina prolongaba la vida de los embriones de pollo infectados, pero que las diferencias entre los grupos tratados y los testigos no eran espectaculares a pesar de tener valor estadístico.

Greiff, Pinkerton y Moragues (1944), usando también la técnica del embrión, demostraron que la penicilina (1 000 unidades) y el ácido *p*-aminobenzoico (6,6 mg) tenían evidentes efectos rickettsiostáticos.

Análisis antigénico. Durante el curso de las rickettsiosis y después de la inmunización con vacunas rickéttsicas se forman anticuerpos, pero fué solamente después de emplear el método de cultivo en saco vitelino, de Cox (1938), que los laboratorios no dedicados a la investigación pudieron disponer de suspensiones de rickettsias.

Las rickettsias poseen antígenos específicos para cada especie, que se pueden descubrir por reacciones serológicas empleando suspensiones de rickettsias como antígenos. Sin embargo, la mayor parte de ellas poseen un antígeno no específico en común con ciertas cepas de *Proteus;* es de valor extraordinario para el laboratorio en el diagnóstico de ciertas rickettsiosis. La aglutinación cruzada específica con cepas de *Proteus* se conoce como *reacción de Weil-Felix.*

Reacción de Weil-Felix. Estos autores, en 1915, en Rumanía, aislaron de la orina de un paciente con tifus un organismo que pertenecía al grupo *Proteus* y era aglutinado por el suero del enfermo y los de otros nueve infectados. Al año siguiente (Weil y Felix, 1916) aislaron una cepa de *Proteus,* designada *X19,* que era aglutinada en dilución mucho mayor por los sueros de pacientes de tifus. Más tarde, estos bacilos fueron disociados en tipos O y H, y se encontró que los antígenos O daban reacciones más específicas con los sueros de enfermos de tifus. Actualmente la cepa *OX19* suele usarse en los laboratorios para diagnóstico del tifus (epidémico y endémico) y de la fiebre manchada. Esta prueba no permite diferenciar entre sí las tres rickettsiosis.

Otra cepa de *Proteus,* conocida como cepa Kingsbury u *OXK,* es aglutinada por los sueros de pacientes de fiebre tsutsugamushi (tifus *scrub).* La historia de esta cepa es muy interesante por cuanto había sido considerada como una cepa de *OX19,* y Fletcher y Lesslar (1926) la emplearon junto con otras cepas de *Proteus X19,* designadas "Nº 67" y "Warsaw". Estos autores comprobaron que sus pacientes con "tifus tropical" podían incluirse en dos grupos serológicos; los sueros de un grupo sólo aglutinaban la cepa Kingsbury, mientras que los del otro grupo aglutinaban solamente las cepas 67 y Warsaw.

No hubo diferencias clínicas entre los casos de los dos tipos y dichos autores propusieron efectuar la reacción de Weil-Felix por lo menos con dos cepas diferentes de *OX19.* Sin embargo, el trabajo posterior ha demostrado que los agentes infecciosos de los dos tipos de tifus eran diferentes.

Buscando una explicación al fenómeno de Weil-Felix, White (1933) encontró que los filtrados de suspensiones salinas hervidas de *Proteus OX19* precipitaban al mezclarse con sueros de conejos inmunizados por inyecciones de cultivos de *OX19* y también con sueros de pacientes de tifus. Las aglutininas *OX19* en ambos tipos de sueros eran negativas después de separar los precipitados. Después del tratamiento con agentes químicos, White demostró que los cuerpos de *Proteus OX19* contenían dos substancias termoestables, una substancia álcalilábil que causaba la aglutinación de los organismos con sueros anti-*OX19,* y un factor álcaliestable que era causa de la aglutinación por suero de enfermo de tifus; este último factor sólo desempeñaba un pequeño papel en la aglutinación de los bacilos *OX19* por los sueros anti-*OX19.* Castañeda (1935) aisló dos factores, ambos polisacáridos, y encontró el factor común o "X" precipitable por alcohol poco concentrado (1-2,5 en volumen). El factor "P", característico solamente de *Proteus,* fué aislado de los extractos de bacilos después del tratamiento con grandes volúmenes de alcohol y, según la observación de White, era muy sensible al tratamiento con álcali.

La reacción de Weil-Felix tanto con *OX19* y *OXK* es negativa en la fiebre Q, fiebre de Bullis y tifus vesicular.

Otros tipos de análisis antigénicos. Las relaciones entre las diversas rickettsias sólo pudieron determinarse al principio por estudios con la reacción de Weil-Felix y pruebas de protección cruzada en animales curados de uno u otro tipo de rickettsiosis. Mucha de la confusión relativa a los diversos tipos de tifus conocidos con frecuencia por el nombre de la localidad donde se registró la enfermedad, resultaron

de la cantidad inadecuada de antígeno rickéttsico disponible para estudios serológicos. En la actualidad se pueden llevar a cabo reacciones de fijación del complemento y de aglutinación con resultados más específicos.

Zinsser y Castañeda (1932) comprobaron la existencia de cierta inmunidad cruzada entre los tifus epidémico y endémico, y demostraron que una vacuna con rickettsias de tifus mexicano (endémico) preparada de una rata infectada tratada por rayos X, producía inmunidad para las inyecciones subsiguientes de rickettsias homólogas viables. Sin embargo, los animales sólo desarrollaban una inmunidad parcial para *R. prowazekii*, como se demostró por la inyección de rickettsias de tifus europeo (cepa Breinl). Plotz (1943) demostró que la reacción de fijación del complemento con antígenos lavados de yema de huevo podía emplearse para distinguir entre los sueros de tifus epidémico y endémico. Aunque ocurría una fijación cruzada, los títulos con antígenos homólogos fueron más altos que con los antígenos heterólogos. Tuvo especial interés el hallazgo de que los sueros de 23 pacientes con enfermedad de Brill mostraron una fijación mucho más alta con antígenos rickéttsicos de tifus epidémico que del proceso endémico. Este hallazgo confirmó la concepción original de Zinsser, según la cual la enfermedad de Brill era una recrudescencia del tifus europeo en inmigrantes recientes, opinión que en ese tiempo se basaba únicamente en observaciones clínicas y epidemiológicas. Van de Scheer y colaboradores (1947) confirmaron el hallazgo de Plotz en cuanto a la separación de los tifus endémico y epidémico por la técnica de fijación del complemento, pero señalaron que debían determinarse los títulos con ambos antígenos por existir fuertes reacciones cruzadas. Estos autores demostraron que los sueros de pacientes con fiebre manchada podían distinguirse claramente de los de tifus. Debe señalarse que ocurren reacciones positivas falsas de fijación del complemento cuando se prueban los sueros de pacientes sifilíticos con reacción de Wassermann positiva utilizando antígenos rickéttsicos por el método más sensible de fijación en nevera durante 18 horas (Van de Scheer y colaboradores, 1947).

Las pruebas de aglutinación llevadas a cabo por Zinsser y Castañeda (1932) demostraron relaciones de tipo antigénico entre los antígenos del tifus endémico preparados en ratas tratadas con rayos X y vacunas del tifus epidémico (vacunas de piojo de Weigl), pero comprobaron que podían distinguirse comparando los títulos respectivos. Plotz y colaboradores (1944) señalaron que la técnica de aglutinación con antígenos del saco vitelino era menos específica que el método de fijación del complemento, ya que los sueros de casos de fiebre manchada aglutinaban también a las rickettsias de tifus epidémico y endémico, mientras que no fijaban el complemento con antígenos de tifus.

Más recientemente, Castañeda (1945) ideó una prueba de aglutinación en portaobjetos empleando rickettsias de pulmones de ratones infectados por vía intranasal con cepas de tifus europeo y endémico. Los resultados fueron paralelos a los obtenidos con reacciones de fijación del complemento practicadas con el mismo tipo de antígeno de pulmón de ratón. Castañeda hizo la observación interesante de que en los enfermos la técnica de aglutinación permite descubrir anticuerpos antes que la fijación del complemento.

Nelson (1947), usando suspensiones de rickettsias preparadas del saco vitelino, comparó el tiempo de aparición de aglutininas *OX19*, aglutininas rickéttsicas y anticuerpos fijadores del complemento para las rickettsias en 22 casos de tifus endémico y observó que las aglutininas tanto para el *Proteus* como para la *Rickettsia typhi* podían ser descubiertas tan precozmente como los anticuerpos fijadores del complemento.

Burnet y Freeman (1937) encontraron aglutininas para las rickettsias de fiebre Q, pero no para *OX19* y *OXK* en pacientes convalecientes; y Bengtson (1941) utilizó las pruebas de aglutinación y absorción de aglutininas para probar la identidad de los organismos rickéttsicos aislados de la epidemia del National Institute of Health con los de fiebre Q en Australia.

Se encontraron aglutininas para *OXK* "casi invariablemente positivas" en los 195 casos de fiebre tsutsugamushi estudiados por Berry y colaboradores (1945). Wolfe y colaboradores (1946) describieron un antígeno de los sacos vitelinos infectados que fué utilizado con éxito para demostrar los anticuerpos fijadores del complemento en cobayos infectados experimentalmente. La reacción fué específica, no obteniéndose reacciones cruzadas con antígenos de tifus epidémico o endémico, fiebre manchada y fiebre Q.

Se demostró que un antígeno de tifus vesiculoso *(R. akari)* fijaba el complemento con grandes diluciones de suero de dos pacientes convalecientes de la infección; dichos sueros dieron reacciones de aglutinación negativas con antígeno *OX19* y *OXK* (Greenberg y colaboradores, 1947). Huebner y colaboradores (1946), sin embargo, señalaron que los antígenos *R. akari* fijaban el complemento de sueros de cobayos infectados experimentalmente con fiebre manchada.

Se obtuvieron reacciones positivas de fijación del complemento para un antígeno de fiebre de Bullis hecho de bazo triturado de ratón infectado, en el 76 por ciento de los 192 sueros de casos diagnosticados de fiebre de Bullis (Livesay y Pollard, 1944).

Infección espontánea en animales. *R. ruminantium* es una rickettsiosis de vacas, cabras y ovejas; tiene gran mortalidad; produce alteraciones en las células endoteliales de los vasos sanguíneos semejantes a las lesiones causadas en el hombre por las rickettsias. *R. ovina* de las ovejas, *R. canis* de los perros y *R. bovis* del ganado vacuno, que se encuentran en los monocitos circulantes en procesos febriles de estos animales, han sido estudiados por Pinkerton (1942); según él, se necesitan nuevos estudios antes que puedan ser clasificadas definitivamente entre las rickettsias.

Aunque las rickettsias patógenas para el hombre producen enfermedad cuando se inoculan a ciertos animales de laboratorio, se sabe muy poco acerca de la infección de los animales en libertad. La rata es vector evidente del tifus endémico; se puede demostrar que la enfermedad es muy leve en este animal por inoculación de ratas en el laboratorio. En la Naturaleza, la infección probablemente se transmite de rata a rata por la pulga y el piojo de este animal. Con *R. rickettsii* el problema es más difícil, por cuanto cepas virulentas de estos organismos producen una enfermedad muy grave, con frecuencia mortal en cobayos inoculados, mientras que en condiciones naturales las infecciones espontáneas de los roedores son leves. El problema se complica más por la naturaleza del antrópodo vector de la última enfermedad. La garrapata, aunque tenga sus tejidos infectados con rickettsias, no sufre daño alguno y los microorganismos pueden pasar a su progenie a través de los huevos. Además, la garrapata no es huésped específico; durante su vida se alimenta sobre gran variedad de animales grandes y pequeños, y estos animales pueden albergar la infección por breves períodos de tiempo sin presentar síntomas graves. En el este de Estados Unidos la garrapata del perro *Dermacentor variabilis* transmite la fiebre manchada. Badger (1933) inoculó perros intraperitonealmente con 5 c.c. de sangre de cobayos infectados con *R. rickettsii* y recuperó los microorganismos de la sangre 4 a 8 días después de la inoculación, aunque los animales no presentaron síntomas. Se demostró que un perro criado en una zona endémica conocida, era inmune, ya que no se pudieron recoger los microorganismos cuando se le sangró, hacia el cuarto y sexto días después de inocularle sangre de cobayos in-

fectados. Se encontró que una oveja joven albergó los organismos durante diez días sin presentar signos clínicos de infección.

R. akari parece ser endémica en los ratones; se aisla de los acúmulos de ácaros *(Allodermomanyssus sanguineus)* encontrados sobre los cuerpos y los nidos de ratones caseros (Huebner, Jellison y Pomerantz, 1946). Poco se sabe acerca de la frecuencia de las infecciones espontáneas en estos animales, si bien la inoculación experimental de ratones con *R. akari* produce efectos que describiremos más adelante (Huebner, Stamps y Armstrong, 1946).

Livesay y Pollard (1944) encontraron que cuatro de 40 venados y dos de 7 conejos tenían anticuerpos fijadores del complemento para los antígenos de *Rickettsia* de fiebre de Bullis.

En los antrópodos vectores las rickettsias viven como *simbiones* (Glaser, 1930); ninguno de ellos sufre daño, excepto el piojo del tifus epidémico, que muere por la rotura mecánica del endotelio intestinal que se distiende como resultado de la multiplicación intracelular de las rickettsias.

Infección experimental en animales de laboratorio. Antes que se aplicara el método de cultivo del saco vitelino, la mayor parte de las cepas de rickettsias se identificaban y conservaban por pasos en animales de laboratorio. El cobayo macho fué utilizado con la mayor frecuencia, ya que los resultados de la infección en este animal permitían diferenciar las rickettsias causantes del tifus epidémico, el tifus endémico y la fiebre manchada. Los cobayos machos son inoculados intraperitonealmente con sangre de un paciente durante los primeros días de la enfermedad; se examinan los animales diariamente en busca de lesiones escrotales y se registran sus temperaturas.

R. prowazekii rara vez produce lesiones escrotales en el cobayo macho, pero sí una reacción febril tardía que suele empezar ocho a doce días después de la inoculación. La temperatura se eleva hasta 40° C. o más durante tres a seis días y después remite a la normal. El animal rara vez muere. Las rickettsias se encuentran en el cerebro; si este se quita durante el período febril y se emulsiona en solución salina, la infección puede transmitirse a otros cobayos por inyección intraperitoneal de la emulsión. *R. prowazekii* causa solamente una infección asintomática en los conejos.

R. typhi causa también una infección leve en los cobayos, pero la reacción febril se presenta pronto, al quinto o sexto día, y remite en tres a cinco días. El hecho más característico de la infección por *R. typhi* en este animal es la hinchazón e inflamación escrotal que aparece cinco a siete días después de la inoculación intraperitoneal. La reacción consiste en la inflamación del revestimiento mesotélico y de la túnica vaginal. Los frotis muestran gran núúmero de rickettsias en el citoplasma de las células hinchadas, y también extracelulares por ruptura espontánea de las células distendidas. La hinchazón escrotal fué descrita por Neill en 1917, y posteriormente fué utilizada por Mooser (1928) como característica diferencial. Las células hinchadas, cargadas de rickettsias, con frecuencia se denominan *cuerpos de Neill-Mooser.* También ocurren lesiones en el cerebro, similares a las que se ven en las infecciones por *R. prowazekii*. La infección de ratas machos también resulta en inflamación escrotal con numerosas rickettsias en las células serosas.

R. rickettsii, causa de la fiebre manchada, produce diversas lesiones escrotales en los cobayos infectados; muchos animales mueren de la infección. El escroto muestra hemorragias, trombosis y zonas de necrosis por inflamación de la capa de células endoteliales de los vasos sanguíneos. El mismo tipo de la inflamación escrotal se observa después de la inyección subcutánea de este animal. También aparecen le-

siones en el cerebro, pero sólo se ven en los animales que no mueren al principio de la enfermedad.

R. tsutsugamushi, inoculada a cobayos, produce ascitis y lesiones cerebrales (Lewthwaite y Savoor, 1936), pero los autores difícilmente pudieron conservar las cepas de estos animales, aun cuando su resistencia estuviera disminuída por una dieta pobre en vitaminas. *R. tsutsugamushi* causa el 100 por ciento de infecciones mortales en los roedores *Gerbillus gerbillis* y *Gerbillus pyramidium* (Zarafonetis, 1945). Tullis y colaboradores (1947) estudiaron las lesiones producidas en ratones y en monos consecutivas a inyecciones de rickettsias desarrolladas en cultivos de saco vitelino. La mortalidad en los ratones fué de 99 por ciento, pero ninguno de los 10 monos murió. En los ratones, el primer órgano que presentaba alteración era el bazo; después de varios días el proceso era general. Los ratones murieron desde el noveno al duodécimo día después de la inoculación, demasiado pronto para que ocurriesen alteraciones degenerativas, pero en los monos se encontraron pequeñas zonas de necrosis focal en diversos órganos.

R. burneti, inoculada intraperitonealmente a cobayos, no les causa la muerte, pero produce una exudación vascular y perivascular; esta última está constituída principalmente por células linfocíticas. El bazo es grande y blando. Las lesiones en este animal fueron estudiadas por Lillie (1942), quien observó que las lesiones del cerebro y medula eran raras, comparadas con las que se ven en los animales inoculados con rickettsias de tifus y de fiebre manchada. Los ratones muestran pequeñas zonas de necrosis focal en el hígado (Burnet y Freeman, 1937). Los monos inoculados directamente en el pulmón presentaban lesiones neumónicas similares a las que se habían visto en un caso humano mortal de fiebre Q. Sin embargo, no se pudieron encontrar rickettsias ni en el material animal ni en el humano (Lillie, Perrin y Armstrong, 1941).

R. akari se puede conservar en cobayos por inyección intraperitoneal de lavados de la vaginal. La hinchazón escrotal es constante y suele aparecer al quinto día de la inoculación (Huebner, Jellison y Pomerantz, 1946). La fiebre aparece del cuarto al sexto día, dura de tres a cinco días y se caracteriza por remisiones. Las lesiones consisten principalmente en periorquitis, con adherencia de los testículos a la vaginal, aumento de tamaño del bazo y ganglios linfáticos y en ocasiones hepatización en los pulmones. Frecuentemente se encuentran nódulos cutáneos y subcutáneos en el sitio de la infección. Estos autores conservaron también las cepas en los ratones por inoculaciones intraperitoneales de emulsiones de cerebro y bazo. Los síntomas son más manifiestos entre los días noveno y décimotercero, y la muerte de los animales, aunque rara, ocurre con mayor frecuencia durante este período. Las inoculaciones intracerebrales de rickettsias producen mayor mortalidad que las intraperitoneales.

Los animales de laboratorio no son muy sensibles a las rickettsias de la fiebre de Bullis (Livesay y col., 1946).

BIBLIOGRAFIA

Andrewes, C. H., King, H., and Walker, J. *Brit. J. Pharm.*, 1946, 1:15.
Badger, L. F. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1933, 48:791.
Bengtson, I. A. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1941, 56:272.
Berry, M. G., Johnson, A. S., Jr., and Warhauser, S. E. *War Med.*, 1945, 7:71.
Blanc, G., and Baltazard, M. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1940, 33:25.
Burnet, F. M., and Freeman, M. *Med. J. Aust.*, 1937, 2:299.
Castañeda, M. R. *J. Exper. M.*, 1935, 62:289.
——— *J. Immunol.*, 1945, 50:179.
Cox, H. R. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1938, 53:2241.

——— and Bell, E. J. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1940, 55:110.
Fletcher, W., and Lesslar, J. E. *J. Trop. Med. and Hyg.*, 1926, 29:374.
Glaser, R. W. *Arch. Pathol.*, 1930, 9:71, 557.
Greenberg, M., Pellitteri, O. J., and Jellison, W. L. *Am. J. Pub. Health*, 1947, 37:860.
Greiff, D., Pinkerton, H., and Moragues, V. *J. Exper. M.*, 1944, 80:561.
Holmes, W. H. *Bacillary and Rickettsial Infections*, Macmillan Co., N. Y., 1940.
Hornibrook, J. W., and Nelson, K. R. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1940, 55:1936.
Huebner, R. J. *Am. J. Pub. Health*, 1947, 37:431.
———, Jellison, W. L., and Pomerantz, C. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1946, 61:1677.
———, Stamps, P., and Armstrong, C. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1946, 61:1605.
Lewthwaite, R., and Savoor, S. R. *Brit. J. Exper. Path.*, 1936, 17:1.
——— *U. S. Pub. Health Rep.*, 1942, 57:296.
Lillie, R. D. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1942, 57:296.
——— Perrin, T. L., and Armstrong, C. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1941, 56:149.
Livesay, H. R., and Pollard, M. *Am. J. Trop. Med.*, 1943, 23:475.
——— *Am. J. Trop. Med.*, 1944, 24:281.
———, Wilson, D. J., Pollard, M., and Woodland, J. C. *Am. J. Trop. Med.*, 1946, 26:379.
Mooser, H. *J. Infect. Dis.*, 1928, 43:241, 261.
Neill, M. H. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1917, 32:1105.
Nelson, C. T. *J. Lab. and Clin. Med.*, 1947, 32:360.
Nigg, C. *J. Exper. M.*, 1935, 61:17.
——— and Landsteiner, K. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1930, 28:3.
Nöller, W. *Arch. f. Schiffs u. Tropen-hyg.*, 1917, 21:53.
Pinkerton, H. *Bacteriol. Rev.*, 1942, 6:37.
——— *J. Exper. M.*, 1932, 56:131, 151.
——— and Hass, G. M. *J. Exper. M.*, 1931, 54:307.
Plotz, H. *Science*, 1943, 97:20.
———, Bennett, B., Wertman, K., and Snyder, M. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1944, 57:336.
Pollard, M., Wilson, D. J., Livesay, H. R., and Woodland, J. C. *Texas Rep. on Biol. and Med.*, 1946, 4:446.
Ricketts, H. T. *J.A.M.A.*, 1909, 52:379.
——— *J.A.M.A.*, 1910, 55:309.
——— and Wilder, R. H. *J.A.M.A.*, 1910, 54:463, 1304, 1373.
da Rocha Lima, H. *Berlin. klin. Wchnschr.*, 1916, 53:567.
Smadel, J. E., Jackson, E. B., and Gauld, R. L. *J. Immunol.*, 1947, 57:273.
———, Snyder, J. C., Jackson, E. B., Fox, J. P., and Hamilton, H. L. *J. Immunol.*, 1947, 57:155.
Topping, N. H. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1940, 55:545.
Tullis, J. L., Gersh, I., Jenney, E., McLimans, W. F., and Vinson, J. W. *Am. J. Trop. Med.*, 1947, 27:245.
Van der Scheer, J., Bohnel, E., and Cox, H. R. *J. Immunol.*, 1947, 56:365.
Von Prowazek, S. *Beitr. z. klin. d. Infektionskrankh.*, 1915, 4:5.
Weil, E., and Felix, A. *Wien. klin. Wchnschr.*, 1916, 29:33, 974.
White, P. B. *Brit. J. Exper. Path.*, 1933, 14:145.
Wolbach, S. B. *J. Med. Res.*, 1919, 41:1.
———, Pinkerton, H., and Schlesinger, M. J. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1923, 20:270.
Wolfe, D. M., Van der Scheer, J., Clancy, C. F., and Cox, H. R. *J. Bacteriol.*, 1946, 51:247.
Zarafonetis, C. J. D. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1945, 59:113.
Zinsser, H. *Rats, Lice and History*, Little, Brown & Co., Boston, 1935.
——— and Castaneda, M. R. *J. Exper. M.*, 1932, 56:455.
———, Fitzpatrick, F., and Wei, H. *J. Exper. M.*, 1939, 69:179.

CAPITULO LII

RICKETTSIOSIS DEL HOMBRE, CUADRO CLINICO, TRANSMISION, TRATAMIENTO Y PROFILAXIS

TIFUS EPIDEMICO

(Tifus clásico, tifus europeo)

El tifus ha sido una de las enfermedades más mortíferas en la historia de las epidemias humanas. Se pueden encontrar referencias extensas desde los más remotos tiempos en el libro *Handbook of Geographical and Historical Pathology* de Hirsch, en Murchison y en varios de los trabajos más modernos sobre Epidemiología. La referencia más antigua a una enfermedad que tiene semejanza con el tifus data del siglo once y se refiere a una epidemia que tuvo lugar en el año 1083 en un monasterio cerca de Salerno. Desde ese tiempo, la enfermedad está asociada con campañas militares y, en general, con la miseria humana. Según Hirsch, "la historia del tifus está escrita en las páginas negras de la historia del mundo que tratan de los azotes de la humanidad por guerra, hambre y miseria". Las razones para tal afirmación resultan comprendidas a la luz de la información que poseemos concernientes a las condiciones de transmisión de la enfermedad.

La descripción precisa más antigua del tifus se encuentra en el libro de Fracastor, *De contagione*, publicado en 1546. Desde entonces se conocen descripciones más precisas de la evolución de la enfermedad en sus características clínicas y epidémicas. En tiempos lejanos, la enfermedad, al parecer, fué frecuente, tanto endémica como epidémicamente, en toda Europa. Se repitió en relación con casi todas las guerras y sitios importantes; los brotes de tifus que diezmaban las tropas tenían, probablemente, gran influencia en el resultado de las campañas. Durante el sitio de Granada, donde murieron muchos miles de los sitiadores, recibió su nombre de *tabardillo*, por las manchas que a manera de manto cubrían los cuerpos de las víctimas. Es también la enfermedad de los "Black Assizes", * que ocurrió en Oxford en 1577 y en Exeter en 1586. Durante la Guerra de los Treinta Años, fué quizá la más grave de las muchas causas de muerte que destruyeron las poblaciones europeas. Arrasó al ejército napoleónico a su vuelta de Rusia y barrió por el oeste de Europa en epidemias repetidas antes de este período y después de él. Desde 1846 no han ocurrido grandes epidemias en el oeste de Europa, pero la enfermedad ha persistido en Irlanda y en el sureste de Europa y Rusia. Las epidemias recientes más importantes han sido las que tuvieron lugar durante la primera Guerra Mundial en los Balcanes y en Rusia. En el invierno de 1914-15 empezó un brote grave en Servia; la descripción detallada se encuentra en la publicación de la Comisión Americana de la Cruz Roja, publicada por Strong en 1920.

La epidemia de Servia de 1915 fué tan grave que impidió materialmente las actividades militares y fué probablemente por ello que los ejércitos austríacos aplazaron su segundo ataque sobre aquel país. Una descripción detallada de esta epi-

* Tribunales negros. (N. del T.)

demia se encuentra en el artículo de Strong, en la publicación citada de la Cruz Roja. Se cree que el tifus que apareció en el ejército servio en el otoño de 1914 había sido introducido desde Albania. También se creyó que el tifus ya existía en el ejército austríaco durante la primera invasión. Después de la retirada austríaca del final del verano de 1914, el tifus brotó entre los prisioneros austríacos y soldados servios. A causa de la lucha en el Norte, la población civil servia se vió forzada a ir hacia el Sur, y las condiciones de higiene personal y de habitación se hicieron particularmente difíciles.

Cuadro clínico. La enfermedad comienza 5 a 21 días después de la picadura del piojo infectado. El comienzo puede ser extremadamente brusco o gradual, pero por regla general tiene estrecho parecido con las formas graves de influenza. Los puntos principales de la descripción que sigue a continuación fueron tomados de un estudio de George C. Shattuck sobre la epidemia de Servia.

La temperatura se eleva rápidamente con frecuencia a 39° ó 40° C., con escalofríos, gran depresión, debilidad y dolores de cabeza y de los miembros. La erupción aparece hacia el cuarto o quinto día; excepto en tiempo de epidemia, es extremadamente difícil establecer el diagnóstico en período preeruptivo. El exantema suele aparecer primero en los hombros y tronco, extendiéndose secundariamente a las extremidades, dorsos de manos y pies y, a veces, en palmas y plantas. Llega a ser más abundante dos o tres días después, pero se ve muy rara vez en la cara y en la frente. Al principio se compone de manchas rosadas que desaparecen a la presión; pero pronto se hacen purpúreas, luego de color rojo moreno y finalmente quedan de color moreno. Los centros hemorrágicos, que pueden aparecer después, persisten durante mucho tiempo. No hay erupción sobre las mucosas de la boca y faringe. Las picaduras recientes de pulga a veces son difíciles de distinguir de la erupción del tifus.

Por lo general, el corazón late rápidamente y puede hacerse irregular. La presión sanguínea tiende a estar baja y Shattuck cree frecuente la debilidad del miocardio. Las epistaxis son comunes en fase avanzada. Aparecen con frecuencia bronquitis durante los últimos períodos y casi con regularidad hay tos. Los síntomas nerviosos de diversas clases son acompañantes importantes de la enfermedad. En muchos casos se presenta un estado de letargia semejante al de la fiebre tifoidea. Puede haber calambres musculares durante este estado de estupor. Hay delirio en todos los casos no muy leves. El síntoma más constante y molesto es el dolor de cabeza intenso.

El número de leucocitos rara vez está aumentado; varía desde 3 000 a 15 000, con promedio entre 5 000 y 7 000. La fórmula presenta porcentajes aproximadamente normales.

Las complicaciones más comunes son parotiditis, otitis media supurada y mastoiditis. Se observa gangrena peculiar de las extremidades, sobre todo de los pies, particularmente en casos que ocurren durante tiempo frío. Esta gangrena probablemente guarda relación con las alteraciones vasculares inherentes a la localización de las rickettsias. La bronquitis es una complicación casi regular, como la albuminuria.

La proporción de casos mortales varía según la epidemia; puede ser tan alta como el 70 por ciento y tan baja como el 15 por ciento.

Las lesiones del tifus están causadas primordialmente por reacciones agudas en los vasos sanguíneos, con lesión tisular e inflamación perivascular, que da lugar a trombosis, hemorragias y zonas focales de necrosis.

Transmisión. Aunque se había sospechado durante mucho tiempo que el tifus era transmitido por un insecto, sólo en 1909 se demostró que el piojo del cuerpo era el vector de la enfermedad (Nicolle, Comte y Conseil). Estos autores alimentaron

piojos del cuerpo sobre *Macacus sinensis* infectados de tifus y después dejaron a los piojos alimentarse sobre monos sanos.

Tanto el piojo del cuerpo, *Pediculis corporis*, como el de la cabeza, *P. capitis*, pueden transmitir la infección, pero el primero es vector mucho más importante. Las rickettsias se multiplican en las células de revestimiento del intestino del piojo; éste se hace infeccioso en cuatro a seis días, con máxima infecciosidad entre los días octavo y undécimo. Los piojos infectados mueren invariablemente, hecho que Zinsser interpretó como indicación de que el piojo sería huésped relativamente reciente de la rickettsiosis, ya que los otros vectores artrópodos no son afectados por estos organismos. Como el piojo siempre evacua heces cuando se alimenta, se cree que el hombre adquiere la infección al contaminarse las heridas por las heces infectadas.

El hombre es el único reservorio conocido de la enfermedad, pero Zinsser sospecha que originalmente la infección pudo haber sido enfermedad de roedores que ha llegado a adaptarse al hombre y que se constituyó un ciclo hombre a hombre con el piojo como vector. Tal adaptación la sugiere la alta proporción de mortalidad en el hombre comparada con la mortalidad casi nula de las ratas inoculadas experimentalmente.

Un factor importante en la diseminación del tifus es el alto grado de parasitismo desarrollado por el piojo. Este es muy sensible a los cambios de temperatura, de modo que no solamente abandona el cuerpo febril de un paciente infectado, sino que también emigra de un cuerpo frío, como es un cadáver. Aunque el piojo es el vector natural de la enfermedad, se producen ocasionalmente infecciones por vía respiratoria (inhalación de los microorganismos contenidos en las heces del piojo) o por vía del saco conjuntival (Sadusk, 1947).

Productos biológicos. La vacuna rickéttsica, preparada por el método de saco vitelino de Cox (Cox y Bell, 1940), ha resultado útil como agente inmunizante contra el tifus epidémico. En Egipto hubo una oportunidad para comprobar el valor de la vacuna y fué aprovechada por la unidad del Cairo de la Comisión Americana del Tifus (Ecke y col., 1945). Los autores publicaron los hallazgos hechos en 61 pacientes que habían sido diagnosticados de tifus y que habían recibido previamente una o más dosis de la vacuna de Cox. La única muerte en este grupo vacunado ocurrió en un paciente que había recibido una sola dosis de vacuna tres días antes del comienzo de su enfermedad. En la mayor parte de los casos ésta fué leve, especialmente en aquellos que habían recibido dos o más dosis de vacuna, por lo menos tres semanas antes del comienzo de la enfermedad, pero los autores piensan que la vacunación durante el período de incubación no es útil.

Tratamiento. Hasta recientemente, el tratamiento del tifus era por entero sintomático, pero Yeomans y colab. (1944) publicaron resultados favorables en varios pacientes después de la administración del ácido *p*-aminobenzoico (PABA). Snyder y colab. (1947) compararon los resultados obtenidos en 20 casos tratados con PABA y 19 casos alternos usados como testigos. Seis de los 19 pacientes testigos y uno de los 20 pacientes tratados murieron, diferencia que tiene valor estadístico. Debe consultarse esta publicación para los datos específicos concernientes a la duración de la fiebre y a las complicaciones. Los autores trataron después 60 casos de tifus en Dachau, en condiciones que no podían ser vigiladas, pero creen que la droga fué eficaz y recomendaron mantener concentraciones sanguíneas de 10 a 20 miligramos por cien centímetros cúbicos de sangre. Para obtener este nivel, aconsejan una dosis inicial de 0,05 g por kilogramo de peso corporal seguidos de 1·3 g cada dos horas, día y noche, durante todo el período de tratamiento. *

* Véase el apéndice al final del libro sobre antibióticos. (N. del T.)

Prevención. La prevención del tifus epidémico se logra con medidas para destruir los piojos, pero también es importante la inmunización activa con vacunas. El uso del insecticida DDT reemplazó por completo los métodos más antiguos de lucha contra los piojos, tales como baños calientes y tratamientos de las ropas por vapor, que eran costosos y no tenían efecto duradero. La pulverización de las ropas con DDT (10% de DDT en pirofilita) no solamente mata a los piojos, sino que impide su vuelta durante un mes aproximadamente. Los resultados brillantes de tales medidas en la epidemia de Nápoles de 1943-44 fueron publicados por Wheeler (1946). La eficacia de las medidas preventivas modernas en la lucha contra el tifus se ilustra gráficamente en la figura 138, que compara la frecuencia de la enfermedad, por meses, en Polonia, después de la primera y de la segunda Guerras Mundiales.

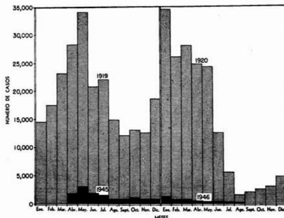


FIG. 138. FRECUENCIA DE TIFUS EN POLONIA DESPUÉS DE LA PRIMERA Y SEGUNDA GUERRAS MUNDIALES. (Según Sawyer, *Am. J. Public Health*, 1947, 37:41.)

Las vacunas son también útiles, especialmente en la protección del personal que trabaja en una epidemia de tifus o en un laboratorio.

Enfermedad de Brill. Es un tifo de tipo leve que ocurre esporádicamente en inmigrantes recientes establecidos en grandes ciudades a lo largo de la costa del Atlántico de EE. UU. Zinsser pensó que estos casos eran clínicamente diferentes de los descritos como tifus endémico encontrados en el sureste de Estados Unidos y pensó que eran casos de tifus clásico leve importados de los focos del sureste de Europa. Zinsser y Castañeda (1933b) obtuvieron rickettsias de tres casos de Boston y comprobaron que la reacción en cobayos inoculados correspondía mejor al tifus de tipo europeo que al endémico o murino. Plotz (1943), usando la reacción de fijación del complemento, más específica antigénicamente, confirmó este punto de vis-

ta, demostrando que los sueros de 23 casos de enfermedad de Brill dieron títulos más altos con antígenos de *R. prowazekii* que con los de *R. typhi*.

TIFUS ENDEMICO

(Tifus murino, tifus transmitido por las pulgas)

El tifus endémico o murino ocurre en el oeste de Europa, Africa Central, Asia, sur de los Estados Unidos y a lo largo de la costa occidental de Sudamérica. En los Estados Unidos, entre 1940 y 1944 se registraron más de mil casos en cada uno de los Estados de Georgia, Florida, Texas y Alabama y más de quinientos casos en Carolina del Norte, Carolina del Sur y Luisiana (Peterson, Overall y Shapiro, 1947).

La enfermedad conocida ahora como tifus endémico fué confundida originalmente con la fiebre tifoidea, sin duda a causa de la semejanza de los síntomas clínicos generales y del exantema que superficialmente se parece a las manchas rosadas de la fiebre tifoidea. Brill (1898) fué el primero en reconocer las diferencias entre el tifus epidémico y el tipo de tifus que se veía en el sur de los Estados Unidos. En las últimas publicaciones (1910, 1911) señalaba que el último era una enfermedad mucho más leve, no contagiosa, que rara vez ocurría en más de un paciente en un solo hogar y que se observaba con máxima frecuencia en los meses de otoño (en lugar de invierno y primavera). Los estudios epidemiológicos de Maxcy (1926b) aportaron pruebas adicionales contra la posibilidad de que el piojo pudiera ser el vector de esta infección, especialmente desde que la enfermedad apareció en personas de nivel social más elevado que el de los individuos que suelen tener piojos. También observó una prevalencia anormal entre los individuos que manejaban substancias alimenticias y pensó que algún otro vector, como una garrapata, pulga o ácaro, podría ser transmisor de la enfermedad. Fundado en el primer trabajo de Brill, Maxcy llamó a la infección del sureste de Estados Unidos tifus endémico o enfermedad de Brill. El último nombre fué poco acertado, ya que se había tratado con anterioridad la identidad de la enfermedad de Brill con el tifus europeo.

El vector de la infección fué descubierto por Dyer, Rumreich y Badger (1931), quienes obtuvieron pulgas de rata de las zonas de donde era el tifus endémico y reprodujeron la enfermedad en cobayos por la inoculación de suspensiones salinas de pulgas trituradas.

Cuadro clínico. Después de un período de incubación que varía de 6 a 14 días, la mayor parte de los pacientes se sienten repentinamente enfermos, con fiebre, escalofríos, dolor de cabeza y postración. La temperatura se eleva progresivamente hasta alcanzar un máximo, por lo general entre el quinto y el octavo día; se observan amplias variaciones diarias en la temperatura. Según Maxcy (1926a), uno de los signos más característicos es la duración casi uniforme de 14 días que tiene la enfermedad; en el 86% de sus 94 pacientes se restableció la normalidad entre los días duodécimo y décimosexto.

La erupción que aparece alrededor del quinto día, pero en ocasiones incluso en el segundo, suele empezar como unas pocas manchas sobre el abdomen o superficies flexoras de los antebrazos, que en 24 horas llegan a generalizarse. Rara vez alcanza las palmas de las manos y las plantas de los pies o la cara. Maxcy subraya la irregularidad de la erupción en casi todos sus aspectos, tales como tamaño, color, forma y distribución. En casos graves el exantema llega a ser petequial. Otros síntomas característicos son tos de tipo espasmódico y náuseas con vómitos; son frecuentes los síntomas mentales, tales como nerviosismo, entorpecimiento y, en ocasiones, delirio. La convalecencia suele prolongarse un mes o más.

El número de glóbulos blancos suele mantenerse dentro de límites normales o ligeramente elevados. La reacción de aglutinación de Weil-Felix con *Proteus OX19* es positiva.

La mortalidad es baja, alrededor del 2%, pero puede ser menor aun ya que muchos casos son tan leves que no se establece el diagnóstico.

Transmisión. La pulga de la rata *Xenopsylla cheopsis* es el vector del tifus endémico. Dyer, Rumreich y Badger (1931) encontraron pulgas infectadas en las ratas atrapadas en Baltimore; después Dyer y colab. (1931) transmitieron la infección de rata a rata, por medio de estas pulgas. Las rickettsias pueden permanecer infectantes en la pulga por un mínimo de 52 días después de la última toma de alimento (Dyer y colab., 1932). La multiplicación de las rickettsias en la pulga fué demostrada por Dyer y colab. (1932), quienes comprobaron que dos días después de tomar alimento media pulga no era infectante para un cobayo, mientras que tres días después, ⅓₂ de pulga era infectante y hacia el undécimo día ¹⁄₁₂₈ ₀₀₀ de pulga podía producir la enfermedad. Las rickettsias se encuentran también en la Naturaleza en otros insectos, incluyendo la pulga del gato, *Ctenocephalides felis* (Irons y col., 1944), y aun la pulga de las gallinas, *Echidnophaga gallinacea*, recogidas de una rata (Brigham, 1941). Muchos insectos, como piojos, chinches y garrapatas, han sido infectados experimentalmente.

Productos biológicos. Se ha preparado una vacuna de rickettsias para el tifus endémico por el método del saco vitelino.

Tratamiento. Smith (1946) publicó el tratamiento de 29 pacientes que se pensó tenían tifus endémico con 2 g de ácido *p*-aminobenzoico cada dos horas, hasta que la temperatura volvió a la normal, y comparó sus cursos clínicos con los de un grupo no tratado. El número de días febriles fué menor en la serie PABA que en el grupo testigo y no se observaron manifestaciones tóxicas por la droga. *

Prevención. La prevención del tifus endémico, como la de la peste, depende de la lucha contra las ratas, de la construcción de edificios impenetrables para estos roedores y de dispositivos adecuados para desperdicios y basura. El Servicio de Sanidad Pública de Estados Unidos ha creado una unidad de lucha contra el tifus que coopera con las unidades locales, si éstas se avienen a publicar las ordenanzas pertinentes, proporcionan dinero y personal y están de acuerdo en llevar a cabo el programa.

Es aconsejable la inmunización activa por inyecciones de vacunas rickéttsicas, para dar protección a los que trabajan en el laboratorio y en el campo en estudios de tifus.

FIEBRE MANCHADA

(Fiebre manchada de las Montañas Rocosas)

Esta infección recibió el nombre de fiebre manchada de las Montañas Rocosas porque fué descubierta en las regiones de Bitter Root y Snake River de Montana, Idaho y Utah, en Estados Unidos. Posteriormente, se han encontrado infecciones en los Estados del Este y ahora se sabe que la enfermedad está extendida, habiéndose registrado casos, entre 1940 y 1944, en todos los Estados, excepto Maine, Vermont, Rhode Island y Kansas (Peterson y col., 1947). Según Ravenel (1947), la introducción de la terapéutica por las sulfonamidas y los antibióticos ha hecho disminuir la mortalidad por infecciones piógenas, en tal extensión que a la fiebre manchada le corresponde gran importancia entre las enfermedades infecciosas agudas de los niños.

* Véase el apéndice al final del libro. (N. del T.)

Cuadro clínico. El período de incubación de la fiebre manchada varía de 3 a 12 días; el comienzo de los síntomas se caracteriza por escalofríos intensos, dolor de cabeza y en las articulaciones y los músculos. Es común la fiebre de 40° a 40,5° C. y no son infrecuentes las temperaturas más altas. El signo más característico es el exantema, que aparece del segundo al quinto día después del comienzo, y se observa primero en las partes periféricas del cuerpo, como muñecas, tobillos, frente, palmas de las manos y plantas de los pies. La localización y la progresión del exantema son importantes para el diagnóstico diferencial de esta infección con el tifus, en el cual la erupción empieza a nivel del tronco y se extiende hacia la periferia.

En los casos graves el exantema llega a ser hemorrágico. Por lo general, el bazo está aumentado de volumen y el número de leucocitos se eleva a 12 000 ó 15 000. Las aglutininas para *Proteus OX19* pueden aparecer ya al quinto día; el título se eleva con la convalecencia. También aparecen anticuerpos fijadores del complemento usando antígenos de *R. rickettsii.*

En el paciente afortunado, la enfermedad suele durar dos o tres semanas y la fiebre baja por lisis; el grave muere, por lo general, en la segunda semana de su enfermedad. Las lesiones principales están en el endotelio vascular; la proliferación e inflamación resultantes ocasionan alteraciones vasculares tales como hemorragias y trombosis.

La mortalidad es muy variable y depende de factores como la cepa infectante y la edad del paciente. Fué la variabilidad en la mortalidad que originalmente creó cierta confusión, e hizo pensar si había diferentes tipos de fiebre manchada. Así, se observó una mortalidad de 70-80 por ciento en los casos adquiridos en el oeste del río Bitter Root, en Montana; una mortalidad de 5 por ciento, en el valle del Snake River y alrededor del 25 por ciento, en los casos adquiridos en el este de Estados Unidos (Holmes, 1940). Topping (1941) comparó la proporción de casos mortales en el Oeste (Montana e Idaho) en un período de diez años (1930-39), con los de los Estados del Este, Maryland (1930-39) y Virginia (1933-39). La proporción máxima de casos mortales en los Estados del Oeste fué de 28,1 por ciento y de 18,4 por ciento en los Estados del Este. Sin embargo, en el Este, casi la mitad de los pacientes tenían menos de 15 años de edad, edad en la cual la mortalidad es netamente más baja que en otras mayores. Cuando se toman en cuenta las edades, la mortalidad no difiere significativamente (menos de 15 años de edad: Este, 12,9 por ciento; Oeste, 12,0 por ciento; 15-39 años de edad: Este, 11,1 por ciento; Oeste, 15,1 por ciento; por encima de 39 años de edad: Este, 37,6 por ciento; Oeste, 41,8 por ciento).

Transmisión. El hombre adquiere la infección por picadura de una garrapata. En el oeste de Estados Unidos la garrapata de bosque *Dermacentor andersoni* es el vector importante; en el este del país, la mayor parte de las infecciones de este tipo son transmitidas por la garrapata del perro *Dermacentor variabilis.* A diferencia de la pulga y el piojo vectores del tifus, en los cuales las rickettsias se encuentran principalmente en las células intestinales, *R. rickettsii* se puede encontrar en casi todos los tejidos de una garrapata infectada, incluyendo las glándulas salivales y los ovarios. También se pueden encontrar los organismos en los huevos y, en consecuencia, en las fases de larva, ninfa y adulto de la descendencia de una garrapata hembra infectada. La infección por tal mecanismo se refiere como infección *transovárica.* Así, resulta posible para la infección mantenerse de generación en generación en los vectores artrópodos, pero como todos los períodos en el ciclo de vida de la garrapata requieren la alimentación con sangre, hay muchas oportunidades para el paso de la infección a los animales y al hombre. Las garrapatas no son huéspedes específicos;

en las fases de larva y ninfa tienden a alimentarse sobre pequeños roedores, mientras que en la adulta toman su suministro de sangre en animales mayores, como vacas, perros y hombres. El porcentaje de garrapatas infectadas varía según las regiones, desde menos del 1 por ciento hasta el 11 por ciento (Parker, 1938). Como las rickettsias se encuentran en las glándulas salivales, la infección del hombre se adquiere directamente por picadura de la garrapata.

Productos biológicos. Se ha preparado una vacuna de rickettsias contra la fiebre manchada con cultivos en saco vitelino. Se dispone de un suero de conejo hiperinmune para tratamiento, que se puede obtener en el comercio.

Tratamiento. Topping (1943) preparó un antisuero de conejo hiperinmune, que es eficaz si se administra durante los primeros tres días de la enfermedad. La dosis recomendada es de 1 c.c. por kilogramo del peso del cuerpo; pero Harrell y colaboradores (1947) aconsejan administrar esta dosis tres veces en tres días sucesivos. Estos últimos autores comprobaron que se obtenía poco efecto beneficioso si la primera dosis de suero se administraba después del tercer día del exantema. Debe probarse la hipersensibilidad del paciente antes de administrarle el suero; en todos los casos el médico deberá anticiparse a la aparición de la enfermedad del suero, que puede complicar el cuadro clínico de la enfermedad.

Aunque el número de casos tratados con ácido *p*-aminobenzoico es aún pequeño, los datos de que se dispone en el momento presente indican que la droga es útil. Ravenel (1947), en su publicación sobre el tratamiento de seis niños, recomienda dosis de 1 a 2 g de PABA por kilo de peso corporal y por día, dándose la dosis mayor (2 g por kilo) a los niños pequeños y la dosis menor (1 g por kilo) a los niños mayores. Según dicho autor, interesa alcanzar una concentración sanguínea de 30-60 mg por 100 c.c. de sangre, pero puede ser necesaria la de 60-80 mg. La droga debe administrarse con bicarbonato sódico para prevenir la acidosis y las náuseas. El tratamiento con sulfonamidas está contraindicado (Topping, 1939). Harrell, comentando el trabajo de Ravenel (1947), cree que la penicilina debe administrarse a los primeros signos de neumonía.

La importancia del suministro de proteínas y líquidos al paciente de fiebre manchada fué subrayada por Harrell y sus colaboradores (1944, 1946), quienes comprobaron que este tipo de terapéutica restitutiva era vital en esta enfermedad, cuya lesión anatomopatológica más significativa es la alteración de los vasos sanguíneos.

En lo concerniente al tratamiento moderno de esta infección deben consultarse las publicaciones de Harrell y colaboradores (1947) y Ravenel (1947). *

Prevención. La fiebre manchada solamente se puede prevenir evitando las garrapatas, lo cual significa que los rancheros y cuidadores de ovejas que forzosamente están expuestos en regiones infestadas de garrapatas, deben llevar vestidos protectores, como botas altas, polainas y blusas bien abotonadas. No se ha encontrado un repelente seguro; como es muy difícil impedir que las garrapatas suban al cuerpo, a pesar de las ropas protectoras, el cuerpo debe ser inspeccionado con frecuencia. En las zonas muy infestadas debe administrarse anualmente la vacuna del saco vitelino (Cox, 1939) a quienes están más comúnmente expuestos a infectarse. La dosis del adulto cosiste en dos inyecciones, con diez días de intervalo, de 2,0 c.c. cada una; los niños deben recibir la mitad de esta cantidad.

En el este de los Estados Unidos casi la mitad de los pacientes son niños, probablemente por su estrecha relación con los perros. La infección se presenta en forma tan esporádica que es dudoso que fuera de valor práctico un programa de in-

* Véase en el apéndice al final del libro lo referente a la acción de la aureomicina y la cloromicetina sobre esta enfermedad. (N. del T.)

munización activa, aunque se haya propuesto. Lo más importante es la educación del público para que conozca los peligros de la infección por las garrapatas de los perros. En los meses de verano, especialmente, los niños deben ser inspeccionados por los padres por lo menos tres veces al día, y debe quitárseles toda garrapata que se encuentre. Afortunadamente, una garrapata debe estar agarrada algunas horas antes que las rickettsias sean activadas, así que la infección se puede evitar eliminando al parásito. Las garrapatas deben quitarse empleando pinzas o protegiéndose los dedos con un papel.

Ravenel (1947) aconseja administrar profilácticamente ácido *p*-aminobenzoico a los individuos en quienes se han encontrado garrapatas.

FIEBRE TSUTSUGAMUSHI

(Tifus scrub, fiebre Flood, fiebre Kedani, tifus rural de Malaya)

Esta infección, descrita primero por Baelz y Kawakami (1879), fué llamada fiebre "de las avenidas", por aparecer en el período de las inundaciones de ciertos ríos del Japón. Durante muchos años se consideró casi como una curiosidad médica, pero el interés en la infección fué revivido repentinamente después de la entrada de los Estados Unidos en la segunda Guerra Mundial. Su importancia se puede ilustrar por las cifras de Sadusk (1947), quien señala que en el Ejército de los Estados Unidos, desde el 1º de enero de 1942 hasta el 31 de diciembre de 1945, se registraron 6 685 casos de fiebre tsutsugamushi.

Cuadro clínico. Lo más característico de la fiebre tsutsugamushi es la lesión en el sitio de la picadura del ácaro. Esta pequeña úlcera, referida usualmente como escara, incluye una pequeña zona (5 mm de diámetro) en el centro, rodeada por una aréola rosada o roja (Browning y colab., 1945). La aparición de la escara se explica probablemente por la forma de alimentarse el ácaro vector, y se describirá luego. Las escaras ocurren con la mayor frecuencia en los tobillos y en las piernas, pero se pueden encontrar en casi todas las partes del cuerpo.

El período de incubación se ha estimado que es de 7 a 14 días. Los síntomas son los de una infección aguda, empezando con dolor de cabeza, fiebre, escalofríos y dolor, especialmente en los globos oculares. La presencia de la escara ayuda a diferenciar esta infección del dengue, que al comienzo se le parece estrechamente. Los ganglios linfáticos correspondientes a la escara están abultados y dolorosos, y hay adenitis generalizada.

El exantema que suele aparecer alrededor del cuarto al séptimo día, sólo se observa en un tercio de los casos, es máculopapular y se localiza de preferencia en el tronco y en las extremidades.

La fiebre, de 39,5° a 40° C., dura de dos a tres semanas, menos en los casos leves y más en los graves. El número de leucocitos es muy variable, pero casi siempre está dentro de límites normales. La convalecencia es larga; dura seis semanas o más; la mortalidad es alrededor del 4,0%. Las aglutininas para *Proteus OXK* aparecen durante la segunda semana de la enfermedad.

En los casos mortales las lesiones que se encuentran son aumento de volumen del hígado y el bazo. Browning y colab. (1945), en las autopsias en seis casos, notaron particularmente la ausencia de trombosis y coágulos sanguíneos y observaron que la sangre parecía ser extremadamente *flúida*.

Transmisión. Los vectores importantes de la enfermedad tsutsugamushi son los ácaros *Trombicula akamushi* y *T. deliensis*. Estos ácaros semejan superficialmente

a la *nigua (T. irritans)*, parásito común en el sur de los Estados Unidos, pero que no puede transmitir la infección.

Los ácaros sólo atacan al hombre o al animal en período de larva (de seis patas); los adultos, de ocho patas, viven sobre los huevos de otros insectos. Las rickettsias, por lo tanto, deben pasar por vía transovárica, como en la garrapata. En las zonas endémicas de fiebre tsutsugamushi los ácaros se encuentran comúnmente sobre las ratas y otros roedores.

Las larvas de ácaros obtienen su alimento produciendo una pequeña zona de licuefacción en la piel de un animal de la cual drenan el líquido nutritivo por la formación de un tubo o canal de succión (Ewing, 1944). Este método de obtener alimento quizá explique la escara local característica de la enfermedad tsutsugamushi, ya que las rickettsias no son introducidas directamente en la corriente sanguínea, como en el tifus y la fiebre manchada, sino que se multiplican totalmente en el sitio de inoculación. El aumento de tamaño de los ganglios linfáticos vecinos también hace pensar que la enfermedad al principio sea un proceso local que llegue a generalizarse por vía linfática.

Productos biológicos. Wolfe y colab. (1946) han preparado una vacuna de rickettsias. La vacuna ha resultado útil en la inmunización de animales de experimentación.

Tratamiento. El tratamiento de la fiebre tsutsugamushi es sintomático, pero el trabajo de Zarafonetis (1945) en jerbos infectados con *R. tsutsugamushi* ha demostrado que la administración de ácido *p*-aminobenzoico es eficaz para evitar la muerte. La eficacia del PABA ya ha sido señalada anteriormente; los datos existentes permiten suponer que esta droga será útil en el tratamiento de esta enfermedad. *

Prevención. La prevención de la fiebre tsutsugamushi estriba principalmente en evitar que se adhieran los ácaros. Las vacunas que se han preparado recientemente es probable que resulten útiles, pero aparecieron demasiado tarde en la guerra para que pudiesen ensayarse en el campo.

El dimetilftalato es un repelente que impide la adhesión de las *niguas;* Welt (1947) comprobó la eficacia de esta substancia para prevenir la enfermedad en zonas endémicas del sur del Pacífico. Cuarenta y cinco casos de fiebre tsutsugamushi aparecieron en un batallón que no usaba el repelente; un segundo batallón, en el cual las ropas habían sido pulverizadas con el acaricida, tuvo dieciséis casos; las ropas de una tercera unidad de dos y medio batallones fueron impregnadas con solución jabonosa de dimetilftalato y, después de exposición durante el mismo período de tiempo en la misma región, solamente hubo siete casos de la enfermedad.

FIEBRE Q

Esta rickettsiosis difiere de las tratadas hasta aquí en que los síntomas son primariamente respiratorios, no hay exantema característico y las aglutinaciones de Weil-Felix con ambos *Proteus, OX19* y *OXK*, son negativas.

Esta infección fué descrita primero en Australia por Derrick (1937) y Burnet y Freeman (1937), quienes estudiaron una epidemia entre empleados de mataderos y lecherías. El nombre de fiebre Q fué aplicado a la infección cuando ocurrió en Queensland, Australia. El organismo fué denominado por Derrick (1939) *Rickettsia burneti.*

* Véase el apéndice al final del libro. (N. del T.)

Davis y Cox (1938) aislaron tres cepas de una nueva *Rickettsia* de *Dermacentor andersoni* en el sureste de Wyoming. Como este organismo tenía la propiedad de pasar a través de los filtros, fué designado posteriormente como *Rickettsia diaporica* por Cox (1939). Mientras tanto, Dyer (1938) había publicado un caso humano que se pensó había sido contraído en el laboratorio; más tarde (1939) se demostró que la *Rickettsia* aislada de la fiebre Q australiana daba pruebas cruzadas de aglutinación y de protección con los organismos aislados en el oeste de Estados Unidos.

El interés por esta enfermedad aumentó después de la aparición de 15 casos entre los empleados de un edificio del Instituto Nacional de Sanidad en Washington, D. C. (Hornibrook y Nelson, 1940). También hubo brotes epidémicos en las tropas aliadas en la zona del Mediterráneo, Grecia, Panamá y en las tropas que desde Italia regresaban a los Estados Unidos. *

En 1947 ocurrió un segundo brote que alcanzó a 47 pacientes en un edificio en el Instituto Nacional de Sanidad en Bethesda, Maryland (Huebner, 1947). Al mismo tiempo ocurrieron epidemias en dos colonias de cobayos dentro del mismo edificio.

Cuadro clínico. El estudio clínico que damos a continuación fué tomado en gran parte de los datos dados en la serie de publicaciones citadas en la nota al pie de la página. El período de incubación varía de 14 a 26 días, con un promedio de 19 a 20. El comienzo fué brusco, con fiebre, escalofrío, debilidad y malestar generales, dolor de cabeza y dolores musculares. La mitad de los pacientes, aproximadamente, se quejaban de dolor en los globos oculares al movimiento. El dolor del tórax fué común y había tos, pero no como síntoma prominente. Un hallazgo característico fué un foco de consolidación de los pulmones, generalmente en un lóbulo, descubierto por los rayos X. La fiebre alta duró de 4 a 15 días y la convalecencia fué casi siempre rápida. El número de leucocitos estaba dentro de límites normales. La enfermedad raramente fué mortal. En un caso publicado por Lillie, Perrin y Armstrong (1941) se encontró aumento de tamaño del corazón y del bazo y una zona consolidada en un pulmón.

Transmisión. El método de transmisión no se conoce, pero la mayor parte de las epidemias están relacionadas con animales. Como se indicó, los microorganismos se pueden aislar de las garrapatas. Los bóvidos y otros animales se han encontrado infectados naturalmente en Australia, donde se piensa que en condiciones naturales la infección se transmite por garrapatas como *Heaemaphysalis humerosa*, *Rhipicephalis sanguineus* e *Ixodes holocycus* (Smith, 1940, 1941, 1942). El hombre se infecta probablemente por vía respiratoria, ya que en los antecedentes es raro encontrar una picadura de garrapata, y no se registró historia de picaduras por insectos en los casos estudiados en la zona del Mediterráneo. Los investigadores australianos han supuesto que el hombre adquiere la infección por inhalación de heces secas de garrapata existentes en cueros de ganado vacuno, lo cual podría explicar la presencia de esta enfermedad entre los empleados de mataderos y lecherías. Los estudios epidemiológicos del Instituto Nacional de Sanidad de EE. UU. también hacen pensar que la infección fué adquirida por inhalación, presumiblemente de productos de yema de huevo.

No hay transmisión directa de la infección de un hombre a otro.

Tratamiento. Es sintomático. Las sulfonamidas y la penicilina se han administrado en varios casos, pero se ha demostrado que no tienen acción sobre la enfermedad

* En *American Journal of Hygiene*, 1946, volumen 44, páginas 1 a 182, se publicó una serie de 12 artículos de diversos autores sobre aspectos clínico, epidemiológico y de laboratorio de estas epidemias.

(Feinstein y col., 1946). El ácido *p*-aminobenzoico debe administrarse solamente como ensayo clínico. *

Prevención. Aunque no está comprobada la transmisión respiratoria de la enfermedad, la prevención probablemente debe de consistir en las medidas para evitar las infecciones transmitidas por el aire, especialmente en las proximidades de productos animales. A causa de la frecuencia de brotes epidémicos en los laboratorios, valdría la pena producir una vacuna para inmunización activa de las personas empleadas en un edificio donde se estén llevando a cabo estudios con este microorganismo.

TIFUS VESICULAR
(Rickettsialpox)

Esta enfermedad fué descrita primero como ocurrida en un albergue de la ciudad de New York en 1946 (Sussman, 1946; Shankman, 1946). Entre enero y octubre se registraron 124 casos en 78 familias, que ocurrieron igualmente en ambos sexos y estuvieron distribuídos en todas las edades.

Cuadro clínico. El período de incubación no se conoce, pero en un caso se estableció como de 10 días (Greenberg y col., 1947). Lo primero que aparece es una lesión papular primaria que se supone a nivel de la picadura del ácaro, seguida de una necrosis central con formación de escara negra. Los ganglios linfáticos regionales aumentan de tamaño, y cosa de una semana después de la lesión inicial hay comienzo agudo con escalofríos, fiebre, dolor de cabeza y de espalda. El exantema, descrito como máculopapular y pápulovesicular, aparece dos a cuatro días después del comienzo de los síntomas generales.

El nombre inglés de *rickettsialpox* fué sugerido porque quienes vieron por primera vez la enfermedad creyeron que se trataba de una forma típica de varicela. ¿Se trata de una enfermedad nueva o ha sido confundida anteriormente con la varicela?

La duración de la enfermedad es alrededor de tres semanas; el exantema persiste de 7 a 10 días. Ninguno de los pacientes murió. Los sueros de dos pacientes curados fijaron el complemento con la cepa aislada de un tercer paciente. Las aglutinaciones con *Proteus OX19*, *OX2* y *OXK* fueron negativas.

Transmisión. El organismo, *Rickettsia akari*, fué encontrado en el ácaro *Allodermomanyssus sanguineus*, parásito del ratón casero *Mus musculus*. En los ratones cazados se encontraron anticuerpos fijadores del complemento para *R. akari* y de uno de ellos se aisló la *Rickettsia*.

Tratamiento. El tratamiento es sintomático. **

Prevención. Según Greenberg y colaboradores (1947), el tifus vesicular es enfermedad casera y creen que los grandes incineradores, en los que se acumulan las basuras que no se encienden con frecuencia, crean excelentes alojamientos para los ratones. Estos autores aconsejan una atención constante para evitar el acúmulo de desperdicios y desechos alimenticios, especialmente en los incineradores de los grandes edificios.

FIEBRE BULLIS

La infección llamada fiebre Bullis fué señalada primero por Woodland y colaboradores (1943), del Hospital General Brooke, en Fort Sam Houston, Texas. Todos los

* Véase el apéndice al final del libro, sobre la acción de la cloromicetina y aureomicina en las rickettsiosis. (N. del T.)
** Véase el apéndice sobre la acción de la cloromicetina y la aureomicina. (N. del T.)

pacientes habían estado de maniobras en el Campo Bullis, Texas. Su comunicación estaba basada en 33 casos, pero manifestaban que en mayo y junio de 1943 fueron admitidos en el hospital 485 pacientes.

Cuadro clínico. El comienzo es brusco, con escalofríos y fiebre por encima de 40-41° C.; el dolor de cabeza y retroorbitario es común. Hay postración y debilidad intensas. La fiebre dura de 4 a 14 días. Hay aumento de tamaño general de los ganglios linfáticos, que con frecuencia son dolorosos. En un 10 por ciento de los casos, generalmente en los más graves, aparece exantema, que suele desaparecer en plazo de 48 horas. En algunos casos semeja al de la rubéola, en otros, simula el tifus endémico.

El número de leucocitos suele ser muy bajo y la reacción de Weil-Felix es negativa. La enfermedad rara vez es mortal, aunque un paciente falleció con cuadro terminal de angina agranulocítica grave y septicemia.

Transmisión. El mecanismo de transmisión es desconocido, si bien muchos pacientes dicen haber sufrido picaduras de garrapata y la enfermedad desaparece cuando pasa la estación de éstas. Hay datos para creer que la garrapata de Lone Star, *Amblyomma americanum*, sea el vector.

Tratamiento. El tratamiento empleado por Woodland y colaboradores (1943) fué sintomático; estos autores vieron que era necesario reponer los líquidos perdidos con soluciones salinas y glucosadas por vía intravenosa. Manifiestan que la quimioterapia, ensayada en algunos casos, aumentó los síntomas tóxicos del paciente. La evidencia clínica permite suponer que se trata de una rickettsiosis y, por lo tanto, debe tenerse en cuenta la terapéutica con ácido *p*-aminobenzoico. *

Prevención. Como el vector probablemente es una garrapata, las medidas preventivas señaladas en la sección de Fiebre Manchada habrán de ser eficaces.

OTRAS RICKETTSIOSIS

Se han descrito, con diversos nombres y relacionadas con diferentes vectores, muchas rickettsiosis en diversas partes del mundo. Como hace solamente pocos años que se utilizan los métodos de cultivo y las técnicas serológicas para estas enfermedades, se conoce muy poco acerca de las relaciones exactas entre ellas y las antes descritas.

Entre las fiebres manchadas se incluyen las siguientes:

1. *Fiebre botonosa*, causada por *Rickettsia conorii;* se encuentra a lo largo de la región mediterránea, donde se transmite por la garrapata *Rhipicephalis sanguineus.* Es característica de la infección la úlcera primaria en el sitio de la picadura de la garrapata y la inflamación de los ganglios linfáticos regionales, signos que recuerdan la fiebre tsutsugamushi transmitida por un ácaro. Sin embargo, desde el punto de vista inmunológico (Badger, 1933) y de cultivo (Hass y Pinkerton, 1936) está relacionada con la fiebre manchada. La mortalidad es muy baja.

2. *Tifus sudafricano*, transmitido por *R. sanguineus* y por la larva de *Amblyomma hebraeum.* Produce también una úlcera primaria y un aumento de tamaño de los ganglios linfáticos regionales, pero Pijper (1936) afirma que no hay relación inmunológica entre la rickettsia del tifus sudafricano y la de la fiebre manchada. Wolbach (1940), al comentar el trabajo de Pijper, indica que deben repetirse los estudios, ya que sería el primer caso de una rickettsiosis transmitida por una garrapata que no estuviera relacionada inmunológicamente con la fiebre manchada.

* Véase el apéndice sobre antibióticos, al final del libro. (N. del T.)

Sin embargo, la fiebre Q y la fiebre Bullis puede que sean transmitidas por garrapatas; ninguna de las dos muestra relación antigénica alguna con la rickettsia de la fiebre manchada.

3. *Fiebre de Kenya*, transmitida por *R. sanguineus*, pertenece al grupo inmunológico de la fiebre manchada, pero difiere de la fiebre botonosa en que no produce úlcera primaria.

4. *Tifus de São Paulo* del Brasil y *fiebre Tobia* de Colombia son transmitidos por la garrapata *Amblyomma cajennense*. El vector de la *fiebre Choix*, de México, no ha sido descubierto (Mackie y col., 1945).

Entre las infecciones que pertenecen al grupo del tifus murino, todas ellas transmitidas por pulgas, que se conocen en todo el mundo con diversos nombres, están el *tabardillo* de México, la *fiebre náutica* de Tolón, el *tifus manchuriano* y el *tifus urbano* o de Malaya.

La *fiebre de las trincheras* de la primera Guerra Mundial era una infección transmitida por el piojo, presumiblemente causada por una rickettsia. Como la enfermedad desapareció antes que se pudieran hacer los estudios pertinentes, no se puede afirmar de manera definitiva que fuera de origen rickéttsico. Da Rocha Lima (1917) encontró que el 72 por ciento de los piojos alimentados sobre individuos normales albergaban también organismos similares. Mayor confusión produjo otro hecho: Byam (1919) encontró que podían infectarse piojos alimentándolos sobre pacientes 300 a 400 días después de restablecidos de la enfermedad aguda.

Es de lamentar que la enfermedad no pudiera ser producida en animales de laboratorio y que no se dispusiera del método de cultivo en saco vitelino para conservar las cepas. Sin embargo, se cree que la fiebre de las trincheras era una verdadera rickettsiosis causada por *Rickettsia quintana (R. wolhynica)*.

BIBLIOGRAFIA

Badger, L. F. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1933, 48:507.
Baelz, E., and Kawakami. *Virchow Arch.*, 1879, 78:373.
Brigham, G. D. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1941, 56:1803.
Brill, N. E. *N. Y. Med. J.*, 1898, 67:77.
——— *Am. J. Med. Sci.*, 1910, 139:484; 1911, 1942:196.
Browning, J. S., Raphael, M., Klein, E. F., and Coblenz, A. *Am. J. Trop. Med.*, 1945, 25:481.
Burnet, F. M., and Freeman, M. *Med. J. Aust.*, 1937, 2:299.
Byam, W., and Lloyd, L. L. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 1919, Section on Epidemiology and State Medicine, 13:1.
Cox, H. R. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1939, 54:1070.
——— and Bell, E. J. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1939, 54:2171; 1940, 55:110.
Davis, G. E., and Cox, H. R. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1938, 53:2259.
Derrick, E. H. *Med. J. Australia*, 1937, 2:281; 1939, 1:14.
Dyer, R. E. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1938, 53:2277; 1939, 54:1229.
———, Ceder, E. T., Lillie, R. D., Rumreich, A., and Badger, L. F. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1931, 46:2481.
———, Ceder, E. T., Workman, W. G., Rumreich, A., and Badger, L. F. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1932, 47:131.
———, Rumreich, A., and Badger, L. F. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1931, 46:334.
———, Workman, W. G., Ceder, E. T., Badger, L. F., and Rumreich, A. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1932, 47:987.
Ecke, R. S., Gilliam, A. G., Snyder, J. C., Yeomans, A., Zarafonetis, C. J., and Murray, E. S. *Am. J. Trop. Med.*, 1945, 25:447.
Ewing, H. E. *J. Parasitol.*, 1944, 30:339.
Feinstein, M., Yesner, R., and Marks, J. L. *Amer. J. Hyg.*, 1946, 44:72.
Fracastorii, H. *De Contagione et Contagiosis Morbis*, etc. Traducción de W. C. Wright, 1930.
Greenberg, M., Pellitteri, O. J., and Jellison, W. L. *Am. J. Pub. Health*, 1947, 37:860.
Harrell, G. T., Aikawa, J. K., and Kelsey, W. M. *Amer. Practitioner*, 1947, 1:425.
———, Venning, W., and Wolff, W. A. *J.A.M.A.*, 1944, 126:929.
———, Wolff, W. A., Venning, W. L., and Reinhart, J. B. *South. Med. J.*, 1946, 39:551.

HASS, G. M., and PINKERTON, H. *J. Exper. M.*, 1936, 64:601.
HOLMES, W. H. *Bacillary and Rickettsial Infections*, Macmillan Co., N. Y., 1940.
HORNIBROOK, J. W., and NELSON, K. R. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1940, 55:1936.
HUEBNER, R. J. *Am. J. Pub. Health*, 1947, 37:431.
IRONS, J. V., BOHLS, S. W., THURMAN, D. C., Jr., and MCGREGOR, T. *Am. J. Trop. Med.*, 1944, 24:359.
LILLIE, R. D., PERRIN, T. L., and ARMSTRONG, C. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1941, 56:149.
MACKIE, T. T., HUNTER, G. W., and WORTH, M. C. *A Manual of Tropical Medicine*, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1945.
MAXCY, K. F. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1926a, 41:1213; 1926b, 41:2967.
NICOLLE, E., COMTE, C., and CONSEIL, E. *Compt. rend. Acad. d. Sci.*, 1909, 149:486.
PARKER, R. R. *J.A.M.A.*, 1938, 110:1185.
PETERSON, J. C., OVERALL, J. C., and SHAPIRO, J. L. *J. Pediat.*, 1947, 30:494.
PIJPER, A. *Arch. de l'Inst. Pasteur*, Tunis, 1936, 25:388.
PLOTZ, H. *Science*, 1943, 97:20.
RAVENEL, S. F. *South. Med. J.*, 1947, 40:801.
DA ROCHA LIMA. *Münch. Med. Wchnschr.*, 1917, 64:33.
SADUSK, J. F., Jr. *J. Am. M. Ass.*, 1947, 133:1192.
SHANKMAN, B. *N. Y. State J. Med.*, 1946, 46:2156.
SHATTUCK, G. C. *Typhus Fever*, etc. (Serbian Epidemic), Rep. Amer. Red Cross, 1920.
SMITH, D. J. W. *Australian J. Exper. Biol. & Med.*, 1940, 18:103; 1941, 19:133; 1942, 20:213.
SMITH, P. K. *J.A.M.A.*, 1946, 131:1114.
SNYDER, J. C., YEOMANS, A., CLEMENT, D. H., MURRAY, E. S., ZARAFONETIS, C. J. D., and TIERNEY, N. A. *Ann. Int. Med.* 1947, 27:1.
SUSSMAN, L. N. *N. Y. Medicine*, 1946, 2:27.
TOPPING, N. H. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1939, 54:1143; 1941, 56:1699; 1943, 58:757.
WELT, L. G. *Am. J. Trop. Med.*, 1947, 27:221.
WHEELER, C. M. *Am. J. Pub. Health*, 1946, 36:119.
WOLBACH, S. B. *Virus and Rickettsial Diseases*, Harvard University Press, Cambridge, 1940.
WOLFE, D. M., VAN DER SCHEER, J., CLANCY, C. F., and COX, H. R. *J. Bacteriol.*, 1946, 51:247.
WOODLAND, J. C., MCDOWELL, M. M., and RICHARDS, J. T. *J.A.M.A.*, 1943, 122:1156.
YEOMANS, A., SNYDER, J. C., MURRAY, E. S., ZARAFONETIS, C. J. D., and ECKE, R. S. *J.A.M.A.*, 1944, 126:349.
ZARAFONETIS, C. J. D. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1945, 59:113.
ZINSSER, H., and CASTANEDA, M. R. *New Eng. J. Med.*, 1933, 209:815.

PARTE VII

ENFERMEDADES CAUSADAS POR VIRUS FILTRABLES

CAPITULO LIII

CARACTERES MORFOLOGICOS, FISICOS, QUIMICOS Y BIOLOGICOS DE LOS VIRUS

Los virus son agentes infecciosos que, por su tamaño, vienen inmediatamente después de las bacterias y protozoarios. Algunos son apenas visibles con el microscopio; muchos se encuentran más allá de los límites de visibilidad con este instrumento. Las enfermedades por virus, algunas conocidas desde siglos, otras que se observan aún de tiempo en tiempo, rivalizan ahora en importancia con otros estados infecciosos del hombre, los animales y las plantas. Algunas de las más importantes virosis del hombre, como la viruela y la fiebre amarilla, se dominan por inmunización y otras medidas. En contraste, otras enfermedades por virus, como el coriza común, la influenza, el sarampión, la parotiditis y la poliomielitis, exigen enorme tributo anual en morbilidad y mortalidad y constituyen una pesada carga económica. Entre las virosis de los animales están: el cólera de los cerdos, que cuesta anualmente sólo en Estados Unidos, alrededor de 20 000 000 de dólares; la encéfalomielitis equina, que casi llegó a plantear un grave problema económico antes que se encontrara, hace una década, una vacuna eficaz; la enfermedad Newcastle de las gallinas, que amenaza ahora a la industria pollera de los Estados Unidos; y la glosopeda (fiebre aftosa) que solamente puede ser combatida por la matanza de los animales afectados. De importancia económica local son también las enfermedades de los insectos —ictericia de los gusanos de seda, podredumbre del panal (Glaser, 1928)— y muchas enfermedades de las plantas, como el mosaico del tabaco y otras. Continuamente se está poniendo de manifiesto la importancia económica de los virus, no sospechada con anterioridad; los virus bacterianos o bacteriófagos, al afectar a los hongos, pueden interferir en la preparación de la estreptomicina (Woodruff, Nunheimer y Lee, 1947).

Aunque las enfermedades causadas por virus se conocen clínicamente desde muchos años, la existencia de los agentes y su posible naturaleza sólo han sido comprendidos en las últimas décadas. Hace apenas un siglo se empezó a sospechar que los protozoarios patógenos, las bacterias, levaduras y mohos eran causa de enfermedad, y estos agentes etiológicos fueron cultivados uno por uno, separados del huésped y estudiados individualmente. Entre las muchas enfermedades, hubo algunas que se supuso eran de origen infeccioso, pero en las cuales el agente supuesto no se pudo encontrar. Hace sólo unos cincuenta años se comprobó que había un grupo de gérmenes que no respondían a los métodos de estudio usados con anterioridad y que tenían dimensiones menores de las conocidas. En 1892, Iwanowski comprobó que el agente infeccioso del mosaico del tabaco podía pasar a través de un filtro de tierra que retenía las bacterias y otros agentes patógenos conocidos. Beijer-

inck (1899) corroboró los hallazgos de Iwanowski; en plazo relativamente breve se encontró que los agentes causales de muchas enfermedades tenían igual propiedad. Los huéspedes afectados por estos agentes corresponden a todo el mundo animal y vegetal. La extensión biológica de los huéspedes fué mayor aun, cuando Twort (1915) y d'Herelle (1917), independientemente, descubrieron agentes similares que parasitaban y destruían las bacterias. Más recientemente se han encontrado agentes de la misma categoría que parasitan algunos hongos, como, por ejemplo, el actinófago (Reilly, Harris y Waksman, 1947; Woodruff, Nunheimer y Lee, 1947).

Agentes infecciosos como los arriba descritos llegaron a ser conocidos al principio como virus *filtrables;* con el tiempo, simplemente como virus. Los agentes que atacan a las bacterias son conocidos como bacteriófagos. Todavía no se ha establecido de manera inequívoca su lugar en la escala biológica; por lo tanto, no es posible una definición rígida de los virus y los bacteriófagos. La capacidad de atravesar los filtros de tierra, primer criterio que sirvió para separar los virus de otros agentes infecciosos, indicaba la pequeñez del tamaño, y ello se ha comprobado plenamente. Como se ve en la tabla que sigue, el grupo está constituído por individuos cuyos tamaños varían, dentro de los límites de las mediciones directas, entre 680 mμ de longitud para una de las formas más largas, hasta 25 mμ para algunas de las esféricas. Las medidas indirectas por filtración, con filtros de colodión preparados especialmente, indican un posible límite inferior de unas 10 mμ si los virus más pequeños son esféricos. Un segundo criterio de diferenciación general, válido hasta ahora, es que estos agentes parecen ser parásitos obligados, multiplicándose solamente en presencia de células susceptibles vivas y, probablemente, sólo dentro de las mismas. Sin embargo, ninguna de estas propiedades es privativa de los virus, ya que el agente de la pleuroneumonía (Dienes, 1945) es filtrable, pero se desarrolla sobre medio artificial, y el protozoario del paludismo es un ejemplo de un parásito intracelular no filtrable, relativamente grande, que no se ha podido cultivar en ausencia de células. Más adelante aludimos a relaciones y diferencias adicionales.

Tamaños de los principales virus humanos, animales, de plantas y bacteriófagos. Los valores en cursiva se obtuvieron por ultrafiltración; los otros se obtuvieron mediante micrografías electrónicas y por ultracentrifugación. Los valores anotados para el bacteriófago T_2 de *E. coli*, indican ancho de la cabeza, longitud de la cabeza y longitud de la cola.

	mμ		mμ
Neumonitis murina	497 ± 77	Sarcoma de Rous	*100*
Neumonitis felina	455	Fago T_2	80 × 100 — 111
Psitacosis	455 ± 78	Newcastle	70 × 180 — 500
Linfogranuloma venéreo	438 ± 47	Enfermedad de Borna	*85 — 125*
Ornitosis	422 ± 68	Estomatitis vesicular	*70 — 100*
Neumonitis humana	422 ± 58	Peste de gallinas	*60 — 90*
Meningoneumonitis	354 ± 41	Papiloma de conejos	66
Viruela de gallinas	264 × 332	Coriomeningitis linfocítica	*40 — 60*
Viruela de canarios	263 × 311	Fago T_7	50
Mixoma de conejos	233 × 287	Encéfalomielitis equina	50
Molluscum contagiosum	226 × 302	Fiebre del valle del Rift	*23 — 35*
Vacuna	222 × 284	Raquitismo del tomate	25
Ectromelia	210 × 300	Encefalitis de San Luis	*20 — 30*
Parotiditis	170	Encefalitis japonesa B	*20 — 30*
Rabia	*160 — 240*	Fiebre amarilla	*17 — 28*
Seudorrabia	*100 — 150*	Mosaico del tabaco	15 × 280
Herpes	*100 — 150*	Encéfalomielitis de las ovejas (louping ill)	*15 — 20*
Fibroma de conejos	*125 — 175*	Encéfalomielitis murina	*9 — 13*
Influenza B	124	Poliomielitis	*8 — 12*
Influenza de cerdos	117	Bacteriófago S_{13}	*8 — 12*
Influenza A	116	Fiebre aftosa (Glosopeda)	*7 — 16*

La literatura sobre virosis es ya enorme. Son textos extensos sobre virus y virosis del hombre y los animales los libros de Van Rooyen y Rhodes (1948) y *Principles of Bacteriology and Immunity*, de Topley y Wilson (1946). Las virosis de los animales están descritas por Hutyra, Marek y Manninger (1938) y en el libro *Keeping Livestock Healthy* (1942). Las enfermedades por virus del hombre y de los animales y los bacteriófagos están tratados en detalle por diversos autores en *A System of Bacteriology in Relation to Medicine*, volumen 7 (1930) y en *Handbuch der Virusforschung*, de Doerr y Hallauer (1938, 1939). En el libro de Bawden (1939) se estudian en detalle los virus de las plantas y las enfermedades por ellos producidas. Burnet (1945) se ha ocupado de ciertos aspectos ecológicos de los virus. Revisiones y conferencias de diversos autores concernientes a muchas enfermedades por virus han sido recogidas en libros como los de Rivers (1928, 1939, 1941b, 1943 y 1948) y *Virus and Rickettsial Diseases* (1940). Se han publicado numerosas revisiones y comunicaciones (Goodpasture, 1929-30; Rivers, 1932, 1933-34; Rous, 1935-36; Shope, 1935-36; Francis, 1941-42; Mudd y Anderson, 1944; Mudd, 1944; y Dingle, 1947). En el libro *Manual of Determinative Bacteriology* (1948), de Bergey, se halla una clasicación de los virus de las plantas, de los animales y de las bacterias, junto con amplia literatura.

Patología general. Los efectos de la invasión por virus y las respuestas de los huéspedes a la infección por los diversos agentes son muy diversos tanto con respecto a las lesiones locales como a las reacciones generales. Algunos de los virus presentan alto grado de especificidad, no solamente para las especies afectadas, sino también para las células parasitadas. El virus del papiloma del conejo (Shope, 1933) parece afectar solamente a las células epidérmicas, más en los animales adultos que en los conejos muy jóvenes y nada en absoluto a las células epidérmicas de los embriones de conejos (Rous y Beard, 1934a). La especificidad es un carácter sobresaliente de los bacteriófagos, algunos de los cuales se pueden emplear para la clasificación de un microorganismo, como *S. typhosa*, que por todos los otros criterios es una especie única (Felix, 1943). La mayor parte de los virus tienen menor especificidad de huésped, y algunos de ellos, como los de la vacuna, encéfalomielitis equina, psitacosis y seudorrábico, pueden causar enfermedod en especies muy diferentes. En condiciones naturales ocurren variaciones extremas en la respuesta del huésped y en el comportamiento, infecciosidad y especificidad del virus; experimentalmente, se pueden provocar algunas variaciones.

Los efectos sobre las células parasitadas varían desde la degeneración o necrosis rápidas (Rivers, 1939), hasta la proliferación desordenada (Rous, 1935-36, 1943). Las bacterias invadidas por bacteriófagos se desintegran o lisan en unos minutos (Delbrück, 1940, 1942, 1945-46, 1946). En muchos casos se observa necrosis extensa de las células afectadas, como las del hígado en la fiebre amarilla (Da Rocha-Lima, 1912) y en la fiebre del valle del Rift * y las células epiteliales en la vacuna varólica (Goodpasture, Woodruff y Buddingh, 1932), viruela de las gallinas (Woodruff y Goodpasture, 1931) y herpes simple (Lipschütz, 1921a, b). Hay degeneración de las células nerviosas motoras en la poliomielitis (Hurst, 1931) a cualquier nivel de la medula espinal; en las células de Purkinje en la encéfalomielitis de las ovejas (louping ill **) (Rivers, 1933-34) y en las células nerviosas de la rabia (Goodpasture, 1925). En el otro extremo de la serie está el molusco contagioso del hombre, proceso de hiperplasia limitada (Goodpasture y Woodruff, 1931; van Roo-

* Hepatitis enzoótica, enfermedad por virus de los corderos recién nacidos que es transmisible al hombre. (N. del T.)

** Enfermedad primaria de las ovejas, producida por un virus, observada en Inglaterra y en Escocia, caracterizada por encéfalomielitis y transmitida por la garrapata *Oxodes ricinus*. (N. del T.)

yen, 1938) y aun más allá el fibroma del conejo, crecimiento seudotumoral que se produce rápidamente por hiperplasia de las células fibroblásticas y regresa rápidamente también sin formación de escara (Shope, 1932a, b; Ahlström, 1938). Se observan papilomas epiteliales o verrugas causadas por virus en el hombre (Findlay, 1930), la vaca (Creech, 1929), el perro (DeMonbreun y Goodpasture, 1932) y en liebres y conejos americanos (Shope, 1933; Beard y Rous, 1935). En algunos casos, el proceso es una hiperplasia de larga duración. El virus del papiloma del conejo causa proliferación rápida de las células epidérmicas en la capa basal, muchas de las cuales maduran y sufren rápida queratinización. Las neoformaciones jóvenes presentan diversas formas de estructura papilomatosa (Rous y Beard, 1934a, b; Beard y Rous, 1934), pero algunos, después de varios meses, pueden sufrir alteraciones carcinomatosas y acabar en tumores erosivos invasores (Rous y Beard, 1935). El condiloma acuminado en el hombre puede también progresar hasta constituir un proceso papilomatoso erosivo maligno (Buschke y Lowenstein, 1925). En el extremo de la serie de agentes que causan hiperplasia, el virus del sarcoma de las gallinas provoca una multiplicación celular que da lugar a neoformaciones sarcomatosas de carácter maligno, invasor y productor de metástasis (Rous, 1935-36, 1943). Algunos virus pueden estar presentes sin causar signos de enfermedad, como en la coriomeningitis linfocítica de los ratones (Traub, 1936) y en ciertas afecciones de las plantas (Bawden, 1939). Pueden ocurrir infecciones subclínicas con virus como el de la fiebre amarilla (Sawyer y Whitman, 1935-36) y el de la encéfalomielitis equina (Beard, Beard y Finkelstein, 1940). Las infecciones latentes con virus del papiloma sólo pueden ser descubiertas después de concurrir un estímulo adicional de las células infectadas. El virus del herpes puede ser llevado durante toda la vida con recrudescencias más o menos frecuentes de la enfermedad clínica por diversos estímulos como la hipertermia artificial o la fiebre (Dodd, Johnston y Buddingh, 1938; Burnet y Williams, 1939).

Las reacciones generales de los tejidos que acompañan a las diversas virosis también difieren grandemente según los agentes (Rivers, 1939). Los procesos inflamatorios pueden estar asociados con necrosis de los tejidos en algunas afecciones, como la infección subcutánea experimental en el conejo con virus de la vacuna y la neumonía de la psitacosis. En algunas enfermedades por virus el proceso inflamatorio está limitado a la acumulación localizada de leucocitos alrededor de los vasos sanguíneos que ocurre en la encéfalomielitis equina, encéfalomielitis ovina, poliomielitis y vacuna dérmica. La significación del proceso inflamatorio, como respuesta primaria a la infección por virus, ha sido materia de controversia. En algunos casos, como el molusco contagioso y la papilomatosis, no hay proceso inflamatorio. En los primeros períodos de otros estados, como la vacuna varólica en la córnea del conejo, encéfalomielitis ovina, rabia y viruela de las gallinas, ocurren extensas alteraciones degenerativas antes que aparezcan signos de inflamación. Muchos autores consideran que en las infecciones por virus el proceso inflamatorio es una reacción secundaria.

Los virus se agrupan a veces según el tejido más específicamente afectado. Los virus que afectan el sistema nervioso, virus *neurotrópicos*, incluyen los que causan la rabia, la poliomielitis y diversos tipos de encéfalomielitis, como la equina, la de San Luis y la B japonesa. Otros virus se denominan *dermatrópicos*, como los que causan las verrugas, el molusco contagioso, la viruela de las gallinas, la varicela y el herpes. Otro grupo, el *viscerotrópico*, incluye los virus que causan la fiebre amarilla, el cólera de los cerdos y la fiebre del valle del Rift. Los virus que afectan diversos tipos de tejidos se refieren como virus *pantrópicos*.

Cuerpos de inclusión. La información más antigua, que tenía que resultar valiosísima para plantear el problema de la naturaleza de los virus, fué la obtenida con el estudio de los cuerpos de inclusión. Mucho antes que los virus fueran reconocidos como grupo separado, se habían observado ciertas estructuras en casos de enfermedad (Cowdry, 1922, 1934; Findlay, 1938). Los cuerpos de inclusión, en relación con las enfermedades por virus, son estructuras que aparecen en las células de los tejidos enfermos, a veces en el citoplasma, como en la vacuna (Amies, 1938), viruela de las gallinas (Woodruff y Goodpasture, 1929, 1930), molusco contagioso (Goodpasture y Woodruff, 1931), viruela de las ovejas, rabia (Goodpasture,



FIG. 139.



FIG. 140.

FIG. 139. MEMBRANA CORIOALANTOIDEA DE EMBRIÓN DE POLLO.

Microfotografía que muestra los cuerpos de inclusión citoplásmica de la viruela de las gallinas en las células epiteliales. Aumento 200 ×. (Según Woodruff y Goodpasture, *Am. J. Path.*, 1931, 7:209.)

FIG. 140. VIRUS DE VIRUELA DE LAS GALLINAS.

Un cuerpo de inclusión de viruela de las gallinas en una célula epidérmica de embrión de pollo. También se observan mitocondrias en la célula. Aumento 2 200 ×. (Según Goodpasture en Rivers, T. M., *Filtrable Viruses*, Williams y Wilkins Co., Baltimore, 1928, p. 325.)

1925), mixoma de los conejos (Rivers, 1930) y en el grupo psitacosis-linfogranuloma (Bedson y Bland, 1934; Rake y Jones, 1942; Rake, 1947). En otras enfermedades por virus, los cuerpos de inclusión se encuentran dentro de los núcleos, como en la varicela (Amies, 1934), herpes (Lipschütz, 1921a, b), virus III de los conejos (Rivers y Tillet, 1924), virus B (Sabin y Hurst, 1935) y fiebre amarilla (Cowdry y Kitchen, 1930). Ambos tipos de cuerpos de inclusión, intranucleares y citoplásmicos, se pueden ver en la misma célula en infecciones múltiples; inclusiones intranucleares o citoplásmicas ocurren en la superinfección de papiloma del conejo con otros virus (Syverton y Berry, 1947a, b). En muchos casos los cuerpos de inclu-

sión son específicos de la enfermedad, pero también se han visto cuerpos de inclusión en procesos que no se sabe sean debidos a virus y en las células de tejidos de individuos aparentemente normales.

Los caracteres y la significación de algunos cuerpos de inclusión específicos se ilustran con los resultados de los bellos estudios sobre viruela de las gallinas por Woodruff y Goodpasture (1929, 1930) y de molusco contagioso por van Rooyen (1938). Los cuerpos de inclusión de la viruela de las gallinas son estructuras de aspecto grasoso relativamente grandes, que se encuentran en el citoplasma. Estructuras de este tipo fueron descritas, primero, por Rivolta, en 1869, y después, por



Fig. 141.

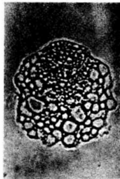


Fig. 142.

Fig. 141. Virus de viruela de las gallinas.

Cuerpos de inclusión sueltos, aislados de lesiones de la piel del pollo por digestión tríptica. Aumento 1 000 ×. (Según Woodruff y Goodpasture, *Am. J. Path.*, 1929, 5:1.)

Fig. 142. Virus de viruela de las gallinas.

Cuerpo de inclusión de las gallinas, mostrando la hinchazón en agua destilada. Aumento 1 000 ×. (Según Woodruff y Goodpasture, *Am. J. Path.*, 1930, 6:713.)

Bollinger (1873); el nombre de éste quedó asociado con las inclusiones de esta enfermedad. La figura 139 es una microfotografía de la membrana corioalantoidea del embrión de pollo con cuerpos de Bollinger en las células epiteliales. En la figura 140 se muestra un cuerpo de inclusión en una célula epidérmica de la piel de pollo. Woodruff y Goodpasture (1929) obtuvieron cuerpos de Bollinger en suspensiones purificadas por digestión prolongada de los tejidos con tripsina y comprobaron que eran estructuras bien formadas envueltas en una membrana lipoidea (fig. 141). Un solo cuerpo aislado por microdisección, producía la enfermedad cuando se inyectaba a la gallina. Estos investigadores encontraron también que los cuerpos se hinchaban en agua destilada (fig. 142) y que al desecarse estas estructuras hinchadas se

rompían y liberaban miles de cuerpos cocoides similares a los descritos en 1904 por Borrel en los tejidos lesionados por viruela de las gallinas. En la figura 143 se muestran cuerpos elementales o de Paschen de la vacuna que no pueden distinguirse de los cuerpos de Borrel liberados por hinchazón y ruptura de las estructuras de Bollinger de la viruela de las gallinas.

Los cuerpos de inclusión de Henderson-Patterson del molusco contagioso, estudiados por van Rooyen (1938), tienen de 24 a 27 μ de ancho, por 30 a 37 μ de largo. Fueron separados del citoplasma de las células epiteliales utilizando microagujas. Cada cuerpo estaba envuelto en una membrana relativamente gruesa y en uno de los extremos había una estructura a manera de casquete que pudo ser separada y liberó una substancia mucoide gelatinosa muy rica en cuerpos cocoides, menudos, similares a los gránulos descritos por Lipschütz (1907) en los frotis teñidos de molusco contagioso.

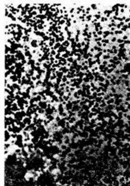


FIG. 143. VIRUS DE LA VACUNA.

Corpúsculos elementales de la vacuna. Coloración de Morosow, obtenida de lesiones de membrana corioalantoidea de embrión de pollo. Aumento 1 800 ×. En estas condiciones los corpúsculos son indistinguibles de los corpúsculos elementales de la viruela de las gallinas obtenidos por rotura del cuerpo de inclusión de esta enfermedad, como el de la figura 142. (Con autorización de G. J. Buddingh.)

La mayor parte de los investigadores creen que los cuerpos elementales de la viruela de las gallinas y del molusco contagioso y los asociados con las estructuras de inclusión en enfermedades tales como la vacuna, psitacosis (Bedson y Bland, 1934), ectromelia del ratón (Barnard y Elford, 1931) y linfogranuloma venéreo (Rake y Jones, 1942) son la causa de las enfermedades; muchos han creído que son organismos diminutos de naturaleza desconocida. En 1905, Von Prowazek llamó a estas formas *Clamidozoos* o animales *recubiertos*, y en esta categoría están ahora clasificados los virus pertenecientes al grupo psitacosis-linfogranuloma (Rake, 1948).

De los estudios acerca de tales enfermedades resulta que estos virus, después de penetrar en las células del huésped, se multiplican y llegan a estar incluídos, como colonia de partículas virósicas, en una estructura especial formada por el agente infeccioso mismo, lo más probable, o quizá por la célula infectada en respuesta al agente. Bedson y Bland (1934) han presentado pruebas de multiplicación por división de los cuerpos elementales de las psitacosis, y Barnard y Elford (1931) han descrito la multiplicación por fisión binaria de los virus de la ectromelia del ratón. Es menos lo que se sabe de la relación entre virus y cuerpos de inclusión en otras virosis. Las inclusiones de la rabia y la poliomielitis no proporcionan cuerpos elementales. Sin embargo, como indicamos luego, se ha aprendido mucho de las características de los cuerpos elementales mismos como resultado de las microfotografías electrónicas. En muchas enfermedades por virus el microscopio óptico no permite decidir si los cuerpos de inclusión u otras estructuras deban ser considerados como virus.

Purificación de los virus. Aunque algunos de los virus mayores son visibles al microscopio, especialmente cuando se tiñen de manera adecuada, otros están más

allá del límite de visión del instrumento, y todos son refractarios al cultivo en medios simples. En consecuencia, era necesario idear otro medio para el estudio directo de estos agentes. Alrededor de 1930, el interés por el problema aumentó al separar los agentes de los tejidos enfermos en cantidades suficientes para estudios químicos y físicos. Ledingham (1931a, b), Craigie (1932), Craigie y Wishart (1934), y posteriormente otros (Hoagland, Smadel y Rivers, 1940), idearon técnicas para obtener los corpúsculos elementales de vacuna en suspensión pura. Schlesinger (1934, 1936) concentró y analizó bacteriófagos. En 1935 Stanley purificó el virus del mosaico del tabaco por precipitación química. Muy pronto se purificaron otros virus de plantas (Bawden y Pirie, 1938; Bawden, 1939) de la misma manera y por técnicas de ultracentrifugación. En los últimos años se ha usado la ultracentrifugación para purificar virus humanos y animales, como los de la papilomatosis del conejo, encéfalomielitis equina (cepas del este y del oeste de EE. UU.), influenza humana A y B, influenza en los cerdos y enfermedad Newcastle en las gallinas. Se han hecho estudios análogos con el bacteriófago T_2 de *E. coli* y un fago que ataca los estafilococos. Los resultados de los trabajos con virus de plantas han sido revisados detalladamente por Bawden (1939), Stanley (1938, 1939a) y Stanley, Knight y de Merre (1945). Hoagland (1943) ha descrito en detalle las investigaciones con virus de plantas y animales, y Smadel y Hoagland (1942) han estudiado detalladamente el virus vacunal. Algunos problemas de la purificación han sido expuestos por Wyckoff (1945). Beard (1948a, b) ha revisado el trabajo hecho sobre virus animales y bacteriófagos.

Para estudios de purificación, se usan como fuentes de material tejidos enfermos, triturados y extraídos en medio salino. El extracto, libre de partículas gruesas por centrifugación a baja velocidad, se coloca en una ultracentrífuga de aire que produce campos de gravitación superiores a 100 000 g (Beams, Pickels y Weed, 1934; Biscoe, Pickels y Wyckoff, 1936; Bauer y Pickels, 1936; Wyckoff y Lagsdin, 1937b). Empleando la supercentrífuga de Sharples, puede trabajarse perfectamente con grandes volúmenes (McIntosh y Selbie, 1940; Stanley, 1942; Taylor y col., 1945). Los concentrados así obtenidos se suspenden nuevamente en volúmenes relativamente menores de soluciones salinas adecuadas y se centrifugan nuevamente a baja velocidad para separar los agregados mayores. La repetición de ciclos alternados de centrifugación a baja velocidad y centrifugación rápida se efectúan en una máquina de vacío que admite hasta 120 c.c. de suspensión (Wyckoff y Lagsdin, 1937b). Es raro encontrar en los tejidos infectados naturalmente suficiente cantidad de virus para este trabajo; así ocurre, por ejemplo, con el virus del mosaico del tabaco (Wyckoff y Corey, 1936) y el del papiloma del conejo (Beard, Bryan y Wyckoff, 1939). Solamente se ha logrado éxito con algunos de los virus animales, como en la encéfalomielitis equina, influenza y enfermedad Newcastle, cuando tales agentes se cultivaron en embriones de pollo. El virus de la encéfalomielitis equina se concentra a partir de extractos de tejidos del embrión enfermo; sin embargo, los virus de la influenza y de la enfermedad Newcastle alcanzan sus mayores concentraciones en el líquido corioalantoideo, del cual se separan por centrifugación. El virus vacunal puede obtenerse de la piel de conejo, usando métodos especiales para inocular y cosechar el agente. Algunos bacteriófagos pueden obtenerse en cantidad suficiente de los lisados apropiados de los organismos huéspedes.

La pequeñez de estos agentes y muchas de sus propiedades han hecho posible el examen de los virus por métodos físicos y químicos que inicialmente se idearon para estudiar proteínas. Muchos de los caracteres físicos de los virus, como su tamaño, forma, densidad y pureza de las preparaciones, se estudian por la sedimentación

de los agentes en una ultracentrífuga analítica movida por aire, en la cual puede apreciarse con la vista la acumulación gradual de virus durante la centrifugación (Svedberg y Nichols, 1923; Biscoe, Pickels y Wyckoff, 1936; Wyckoff y Lagsdin, 1937a; Svedberg y Pederson, 1940). Se han hecho nuevos estudios físicos por medio de electroforesis en el aparato de Tiselius (Tiselius, 1937), difusión, viscosidad (Neurath y col., 1941) y por otros métodos. Probablemente, lo más importante para el conocimiento moderno del carácter morfológico del virus estaba en la visualización o microfotografía de los agentes en el microscopio electrónico (Wyckoff, 1946a). Se han obtenido suficientes cantidades de muchos virus de plantas y de animales para análisis químicos.

Morfología. Aun cuando algunos de los virus de mayor volumen pueden verse en el microscopio, aparte de su tamaño y forma aproximados, poco puede distinguirse. Las imágenes de los cuerpos elementales son un poco mayores cuando se usa el microscopio de luz ultravioleta (Barnard, 1925, 1935, 1937; Barnard y Elford, 1931), pero los hallazgos no dan mucha información. Con el desarrollo del microscopio electrónico han sido posibles límites de visualización enteramente nuevos (Ruska, 1941; Marton, 1941; Hillier y Vance, 1941; Ruska y Kausche, 1943; Zworykin y Hillier, 1945). Con el microscopio ordinario pueden distinguirse objetos hasta de 250 $m\mu$ y puede extenderse el límite de observación hasta cerca de 75 $m\mu$ con microscopio de luz ultravioleta. En contraste, el límite teórico del microscopio electrónico es de 0,5 Å ó 0,05 $m\mu$. Como consecuencia de imperfecciones en las lentes magnéticas y del bajo poder de absorción de electrones de los virus, el límite de los objetos que pueden resolverse viene a ser de 10 $m\mu$. Por lo general, las microfotografías electrónicas se toman con aumentos de 10 000 diámetros y se hacen amplificaciones fotográficas. Los límites de aumento útiles se extienden desde 25 000 a 100 000 diámetros, este último en caso de estructuras "en sombra". Mudd y Anderson (1944) han presentado ejemplos de resultados que se han obtenido con bacterias, rickettsias y virus.

En el microscopio electrónico, la imagen se forma por un haz de electrones (en lugar de uno luminoso), que se enfoca por acción de lentes magnéticas. El instrumento está construído como un microscopio luminoso invertido. En su extremo hay un filamento de tungsteno que se calienta y del cual emanan electrones que pasan a través de un tubo mantenido al alto vacío. El haz pasa primero a través de una bobina magnética abierta, análoga al condensador de un microscopio luminoso, y luego a través de una segunda bobina que corresponde al objetivo. Una vez que los electrones pasan a través del objeto que se examina, se enfocan sobre una pantalla fluorescente en el fondo del tubo, donde pueden verse las imágenes. Junto a la pantalla en el tubo al vacío está la placa fotográfica, que puede exponerse haciendo girar aquélla.

La microfotografía electrónica difiere en varias maneras de la microfotografía luminosa. Las imágenes se forman como resultado, principalmente, de la absorción diferencial de electrones por las distintas partes del objeto. El color falta y la imagen del objeto en la placa fotográfica es negra donde no se absorbieron electrones, y más luminosa donde hubo absorción de ellos. Para un grosor dado, la absorción está en relación con el número atómico de los átomos contenidos en el material. El núcleo o el material nuclear de las células y bacterias absorbe la mayor parte de los electrones y así se diferencia de cualquier otro material celular.

Para preparar el objeto, se depositan los virus sobre membranas de colodión extraordinariamente delgadas, se secan en el aire y se deshidratan después en el vacío del instrumento. Una técnica especial de microfotografía electrónica produce

fotografías con efectos tridimensionales (Williams y Wyckoff, 1945). Con este método, las partículas de virus u otros objetos, después de depositadas sobre la pantalla de colodión, se mantienen al vacío y en posición angular con relación a una fuente de vapores de metales como oro, cromo o platino. De esta manera se cubre un lado de la partícula con el metal, y en microfotografía se observan "sombras" en el lado no cubierto, lo cual permite que la partícula dé la impresión de profundidad y forma.

La microfotografía electrónica, no sólo aporta mucha información acerca de la forma y tamaño de los virus, sino que en muchos de ellos revela también su estructura interna. Los virus de las plantas son esferas o bastones, pero los animales y los



FIG. 144.

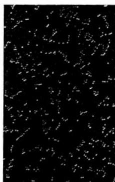


FIG. 145.

FIG. 144. VIRUS DE MOSAICO DEL TABACO.

Microfotografía electrónica del virus. Aumento 31 000 ×. Los bastoncitos de virus miden 15 mμ × 280 mμ.

FIG. 145. VIRUS DEL RAQUITISMO DEL TOMATE.

Microfotografía electrónica del virus sombreado con oro. Aumento 29 000 ×. El virus mide alrededor de 26 mμ de diámetro.

bacteriófagos varían desde esferas hasta partículas de forma de renacuajo o de espermatozoides. En la figura 144 se observa el virus de mosaico del tabaco sin sombrear; consiste en bastones que miden unos 280 mμ de largo por 15 mμ de ancho. En todas las preparaciones de este virus, se encuentran bastones más cortos que bien pueden ser fragmentos de los bastones íntegros. El único dato de estructura interna consiste en estriaciones transversales que se observan en los bastones a intervalos regulares, en algunas preparaciones (Stanley y Anderson, 1941). El virus del llamado raquitismo del tomate que se observa sombreado en la preparación de la figura 145, en esferas de forma y tamaño uniformes, miden unas 25 mμ de diámetro. No se ha observado estructura interna en este virus, pero tampoco ha sido po-



FIG. 146. VIRUS DE NECROSIS DEL TABACO.

Microfotografía electrónica de un cristal aislado de una cepa del virus que muestra la disposición de las partículas individuales formando cristales. Aumento 90 000 ×. (Según Smith, Markham y Wyckoff, *Nature*, 1948, 161:760.)

sible obtener microfotografías sombreadas con buen contraste. Numerosos virus de plantas forman cristales. Los virus del raquitismo del tomate y del mosaico del frijol son ejemplos de agentes que forman cristales verdaderos tridimensionales; y se han obtenido magníficas microfotografías electrónicas de la disposición de las partículas del virus (Wyckoff, 1946b; Price, William y Wyckoff, 1946). En la figura 146 se muestra una microfotografía electrónica de cristales de una cepa del virus de la necrosis del tabaco en la cual se observa el dispositivo de las partículas de virus en los

cristales. El virus del mosaico del tabaco forma paracristales, consistentes en bastones de virus dispuestos en un solo plano (Stanley y Anderson, 1941). Otros virus de plantas en forma de bastón forman cristales similares.

En las microfotografías de las figuras 147 a 160, se muestran virus animales y bacterianos; no se ha observado que ninguno de ellos forme cristales. El virus del papiloma parece ser una esfera de diámetro relativamente uniforme; las microfotografías electrónicas del virus, obtenidas sin sombrearlo, muestran imágenes redondas de contorno poco preciso (Sharp y col., 1942a). En el centro de cada imagen hay una región redonda, de mayor capacidad absorbente de electrones que el resto.



Fig. 147.

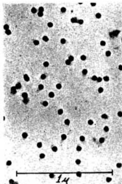


Fig. 148.

Fig. 147. Virus de papiloma del conejo.

Microfotografía electrónica del virus sombreado con oro. Aumento 34 000 ×. El virus mide alrededor de 66 mμ de diámetro. (Según Sharp, Taylor, Hook y Beard, *Proc. Soc. Biol. & Med.*, 1946, 61:259.)

Fig. 148. Virus de encéfalomielitis equina (cepa del Este).

Microfotografía electrónica. Aumento 40 000 ×. El virus mide alrededor de 47 mμ de diámetro. (Según Sharp, Taylor, Beard y Beard, *Arch. Path.*, 1943, 36:167.)

Esta región, de material, al parecer, distinto, tiene la apariencia de un núcleo. La microfotografía electrónica *sombreada* de este agente se muestra en la figura 147 (Sharp y col., 1946c).

Otro virus esférico animal es el agente de la encéfalomielitis equina. En la microfotografía de la cepa del Este de este agente (Meyer, Haring y Howitt, 1931), que corresponde a la figura 148, es mayor la uniformidad del tamaño de la partícula y hay señales de estructura interna central, de carácter variable (Sharp y col., 1943). No hay diferencia apreciable entre el aspecto de la cepa Oeste y el de la cepa Este (Tenbroeck y Merrill, 1933) del virus de la encéfalomielitis equina.

El virus de la influenza (Shope, 1931; Smith, Andrewes y Laidlaw, 1933; Francis, 1940), ilustrado por los hallazgos con el virus de la influenza A (Cepa PR8) en la microfotografía de la figura 149, no parece ser perfectamente esférico (Taylor y col., 1943b). Por el contrario, la imagen da la impresión de que estos virus son ovoides, o de forma arriñonada. Hay pruebas de estructura interna, apreciándose una región redondeada de material diferenciado, situada excéntricamente. La microfotografía demuestra una variación suficiente de tamaño, para explicar el sedimento de límites difuso obtenido con la técnica que se describirá adelante. En la figura 150 se muestra una microfotografía del virus de la influenza, fijado e inactivado

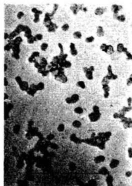


FIG. 149.

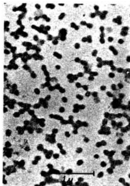


FIG. 150.

FIG. 149. VIRUS A DE INFLUENZA HUMANA (CEPA PR8).

Microfotografía electrónica. Aumento 30 100 ×. El virus tiene alrededor de 100 mμ de diámetro medio. (Según Taylor, Sharp, Beard, Beard, Dingle y Feller, *J. Immunol.*, 1943, 47:261.)

FIG. 150. VIRUS DE INFLUENZA PORCINA.

Microfotografía electrónica del virus inactivado con formol. Aumento 20 000 ×. El virus no sometido a tratamiento mide alrededor de 96 mμ de diámetro.

con formol diluído. En ella, las partículas del virus son casi esféricas y parece haber menor variación de tamaño. Las variaciones de tamaño y forma son aún más manifiestas en las preparaciones sombreadas de la figura 151. Las imágenes de virus de influenza B (Sharp y col., 1944c) y de influenza porcina no parecen distinguirse mucho de las del virus de influenza A (Taylor y col., 1943b).

Los cuerpos elementales de vacuna, que se observan en las microfotografías electrónicas obtenidas de la manera usual (fig. 152) y por medio de la técnica de sombreado (fig. 153), parecen ser bastones cortos de extremos redondeados (Sharp y col., 1946c). En la figura 152 pueden verse signos de estructuras internas hasta

en número de cinco, como regiones redondeadas diseminadas en las partículas, que se han descrito como parecidas a un dado (Green, Anderson y Smadel, 1942). La preparación sombreada de la figura 153 parece una galleta plana, cuya superficie superior muestra montículos irregulares sobresalientes, que han sido interpretados como estructuras internas que, por desecación, encogen menos que las otras partes (Sharp y col., 1946c). Los cuerpos elementales de molusco contagioso, ectromelia, mixoma del conejo, viruela del canario, viruela de la gallina, linfogranuloma venéreo, neumonitis felina y otras, muestran una semejanza general con la morfología del virus de la vacuna (Ruska y Kausche, 1943; Rake y col., 1946; Groupé, Oskay



FIG. 151.



FIG. 152.

FIG. 151. VIRUS A DE INFLUENZA HUMANA (CEPA PR8).

Microfotografía electrónica del virus sombreado con cromo. Aumento 50 000 X. (Según Dingle, *New England J. Med.*, 1947, 237:845.)

FIG. 152. VIRUS DE LA VACUNA.

Microfotografía electrónica. Aumento de 22 100 X. El virus mide alrededor de 222 mμ X 284 mμ. (Según Sharp, Taylor, Hook y Beard, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1946, 61:259.)

y Rake, 1946; Rake, 1947b; Boswell, 1947; Kurotchkin y col., 1947; Hamre, Rake y Rake, 1947). Estos agentes están comprendidos también en los mismos límites de tamaño.

Aunque no todos, algunos bacteriófagos, como el T_2 de *E. coli*, consisten en partículas en forma de renacuajo y con cabezas que parecen bastones cortos de extremos cónicos (Ruska, 1941; Luria y Anderson, 1942; Luria, Delbrück y Anderson, 1943; Hook y col., 1946). Uno de los extremos continúa en una estructura corta semejante a una cola, que termina en una expansión ligeramente ensanchada. La cola generalmente sigue la línea del cuerpo y da impresión de poseer cierta rigidez. En

la cabeza se observa una región en cruz o en forma de Z como estructura interna (fig. 154). Cuando se sombrean estas preparaciones (fig. 155), la cabeza tiene aspecto nodular y hay protrusiones que pueden representar, como en el virus vacunal, proyecciones de material interno segregado por debajo de la superficie de la partícula. Algunos de los bacteriófagos, como, por ejemplo, T_3 y T_7 (fig. 156) de *E. coli*, parecen ser esféricos y no tener cola. El actinófago es una estructura con cola (Woodruff, Nunheimer y Lee, 1947).

Una de las formas más raras de virus es el agente de la enfermedad Newcastle (Beaudette, 1943; Brandley y col., 1946). La microfotografía electrónica de la fi-

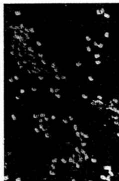


Fig. 153.

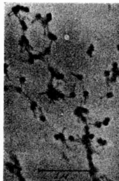


Fig. 154.

Fig. 153. Virus de la vacuna.

Microfotografía electrónica del virus sombreado con oro. Aumento 7 800 ×. (Según Sharp, Taylor, Hook y Beard, *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1946, 61:259.)

Fig. 154. Bacteriófago T_2 de E. coli.

Microfotografía electrónica del bacteriófago después de diálisis ante agua destilada, mostrando su estructura interna. Aumento 22 000 ×. La parte mayor del virus mide 80 mμ × 100 mμ; la longitud total alrededor de 211 mμ. (Según Hook, Beard, Taylor, Sharp y Beard, *J. Biol. Chem.*, 1946, 165:241.)

gura 157 muestra una preparación que no era pura, pero en la cual se ven muchas formas con la morfología de espermatozoides (Cunha y col., 1947). En contraste con el bacteriófago, la cabeza es relativamente larga. La cola es muy larga y delgada; parece que se continúa con la estructura de la cabeza y, por lo general, está graciosamente encorvada como si hubiera sido móvil. En algunas partículas es evidente la estructura interna, y parece como si el contenido interno de la cabeza se continuara con el material del interior de la cola.

En las figuras 158 y 159 se presentan microfotografías electrónicas de un concentrado de líquido corioalantoideo de embriones de pollo infectados con virus de

parotiditis (Weil y Beard, 1948). Este virus, como el agente de la enfermedad Newcastle, es difícil de purificar. Preparaciones como las que se muestran, se obtuvieron formolando el líquido corioalantoideo que contenía el virus. Las imágenes de las preparaciones sin sombrear son variables en tamaño y circulares; hacen sospechar una forma casi esférica de la partícula tratada. En la figura 159 se revela un aspecto semejante en la preparación sombreada. Las medidas de las imágenes de la figura 158 indican un diámetro medio de 170 ± 30 mμ de las partículas formoladas. El parecido de este virus con los de la influenza es notable.

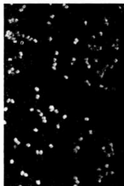


Fig. 155.



Fig. 156.

Fig. 155. Bacteriófago T_2 de E. coli.

Microfotografía electrónica del bacteriófago sombreado con oro después de diálisis ante agua destilada. Aumento 22 000 ×. La imagen rugosa del contorno indica la profusión de estructuras internas bajo la superficie. (Según Hook, Beard, Taylor, Sharp y Beard, *J. Biol. Chem.*, 1946, 165:241.)

Fig. 156. Bacteriófago T_7 de E. coli.

Microfotografía electrónica del bacteriófago. Aumento 44 000 ×. El virus mide alrededor de 60 mμ de diámetro.

Uno de los hallazgos más notables en la microfotografía electrónica es la demostración, en algunos casos, de una membrana limitante o pared celular. Esto se observó por primera vez en las microfotografías del virus de la vacuna, en las cuales había partículas que parecían haberse roto derramándose al exterior la estructura interna y dejando una envoltura externa (Green, Anderson y Smadel, 1942). Un hallazgo semejante se comprueba en las microfotografías del bacteriófago T_2, que muestra formas *espectrales* (fig. 160), que constituyen los contornos de la cabeza y cola en los cuales falta el material que absorbe electrones en la cabeza. Tales formas del virus de la vacuna y del bacteriófago T_2 pueden producirse tratándolos con hidróxido de sodio, el primero, y con vibraciones sónicas, el segundo (Anderson,

1945). Por los estudios sobre densidad por ultracentrifugación, que se describen más adelante, se demostró la existencia de una membrana semipermeable que rodea al virus de la vacuna.

Ultracentrifugación analítica. Puede obtenerse mucha información acerca de algunos de los caracteres físicos de los virus en preparaciones purificadas por el método de la ultracentrífuga analítica.

Esta ultracentrífuga consiste en un mecanismo movido por aire semejante a la ultracentrífuga cuantitativa, pero provisto de un rotor en forma de disco que lleva una celda rectangular, removible, capaz de almacenar 0,2 c.c. y, a su vez, cerrada

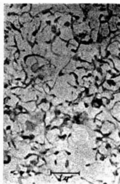


FIG. 157.

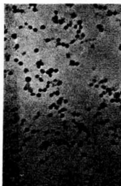


FIG. 158.

FIG. 157. VIRUS DE LA ENFERMEDAD NEWCASTLE DE LAS GALLINAS.

Microfotografía electrónica del virus. Aumento 12 700 ×. La cabeza del virus mide unas 70 mμ × 180 mμ y la cola unas 500 mμ de longitud. (Según Cunha, Weil, Beard, Taylor, Sharp y Beard, *J. Immunol.*, 1947, 55:69.)

FIG. 158. VIRUS DE LAS PAPERAS.

Microfotografía electrónica de un concentrado de líquido corioalantoideo de embriones de pollo infectados con virus de paperas. El diámetro de las imágenes es de 170 ± 30 mμ. Aumento 11 420 ×. (Con autorización de M. L. Weil y Dorothy Beard.)

por arriba y por abajo con discos de cuarzo. La preparación que debe someterse al análisis se coloca en la celda y se hace pasar a través de ella un haz luminoso que entra por debajo en la cámara de vacío, enfocando por arriba, mediante un sistema óptico. Se hace girar la preparación, y el material sedimentado en la celda puede observarse y fotografiarse por el método de absorción de Svedberg, el método de la escala de Lamm o por la técnica de Svensson. De tiempo en tiempo se obtiene un registro fotográfico del carácter y posición del límite del sedimento. Un material compuesto de partículas de tamaño, forma y densidad uniformes produce un límite único definido. Si la preparación contiene dos materiales de esta clase, se verá un

borde con dos líneas distintas. Si las propiedades de sedimentación de las diversas partículas difieren suficientemente, no habrá límite o será difuso. Los ejemplos de sedimentación típicos de la figura 161 ilustran el tipo de datos obtenidos por el método de absorción usando luz ultravioleta.

La figura 161*A* corresponde al diagrama del bacteriófago T_2. Este agente da una sola línea precisa muy neta. El límite permanece preciso conforme desciende en la celda de la ultracentrífuga durante todo el tiempo de estudio, como muestran las fotografías tomadas con intervalos de 2,5 minutos. La velocidad de sedimentación de un agente dado, corregida por su viscosidad, densidad, temperatura y otras



FIG. 159.



FIG. 160.

FIG. 159. VIRUS DE LAS PAPERAS.

Microfotografía electrónica de una preparación como la de la figura 156 sombreada con cromo. Aumento 11 620 ×. (Con autorización de M. L. Weil y Dorothy Beard.)

FIG. 160. BACTERIÓFAGO T_2 DE E. COLI.

Microfotografía electrónica del bacteriófago tratado con cloruro de calcio. Aumento 22 000 ×. El contraste con la superficie está reforzado, mostrando el contorno completo de las partículas. Se ven formas "fantasmas" o contornos vacíos de partículas de las cuales ha salido el contenido. (Según Hook, Beard, Taylor, Sharp y Beard, *J. Biol. Chem.*, 1946, 165:241.)

propiedades del medio de suspensión, es una constante y, por lo tanto, tiene valor en la caracterización. La precisión del límite del bacteriófago T_2 indica un grado alto de uniformidad en tamaño, forma y densidad de las partículas.

No todos los virus muestran tal uniformidad de caracteres. Por ejemplo, el límite que se ve con la cepa Oeste del virus de la encéfalomielitis equina (fig. 161*B*), es algo menos preciso; ello indica una variación pequeña en propiedades (probablemente el tamaño) del virus. En la cepa Este del virus de la encéfalomielitis equina se observan propiedades semejantes (Sharp y col., 1943). En el diagrama de la figura 161*C* se observa una variación todavía mayor en las propiedades de

sedimentación por el espectro relativamente difuso del virus de la influenza. Cuando se usa el método de la escala de Lamm, en lugar del método de absorción de Svedberg, el grado de variación en los caracteres de sedimentación origina un límite difuso que puede medirse con precisión (Sharp y col., 1944b). Tales diagramas indican una gran dispersión en la sedimentación del virus de la influenza. Los resultados de las medidas hechas en las imágenes de microfotografías electrónicas (Sharp y col., 1944b), sugieren que la difusibilidad sea debida en gran parte a la variación de tamaño. Los límites más precisos se han observado con los virus de las plantas estudiados hasta ahora. Muy claros son los que se han observado con el virus que produce el raquitismo del tomate (Lauffer, 1942). Entre los otros virus, los límites más precisos son los del bacteriófago (Wyckoff, 1938; Sharp y col, 1946a) y los del papiloma del conejo (Beard y Wyckoff, 1938); los más difusos son los de la influenza y la vacuna (Beard, Finkelstein y Wyckoff, 1938). En el virus de la enfermedad Newcastle se ha observado un límite muy difuso, pero hay duda sobre la pureza de las preparaciones usadas (Cunha y col., 1947).

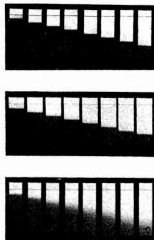


FIG. 161. DIAGRAMAS DE SEDIMENTACIÓN.

A. Diagrama de sedimentación del bacteriófago T_2 de *E. coli.* El intervalo entre las 2 fotografías fué de 2½ minutos y el campo de ultracentrifugación de 7 270 g. *B.* Diagrama de sedimentación del virus de la encéfalomielitis equina (cepa Oeste). El intervalo entre las exposiciones fué de 2½ minutos y el campo de ultracentrifugación de 17 000 g. *C.* Diagrama de sedimentación de virus A de influenza humana (cepa PR8). Las fotografías sucesivas se tomaron con intervalos de 2½ minutos y el campo de ultracentrifugación fué de 7 270 g.

En todos los casos parece que la difusibilidad está relacionada con la variación en el tamaño de la partícula, más que con la forma o densidad.

La velocidad de descenso del límite del sedimento indica el tamaño del virus. Los valores obtenidos en los diferentes estudios antes descritos varían entre $S^{w}_{20^\circ} = 4910 \times 10^{-13}$ para los corpúsculos elementales de la vacuna, que son grandes (Pickels y Smadel, 1938), y $S^{w}_{20^\circ} = 265 \times 10^{-13}$ para el virus de la encéfalomielitis equina que es pequeño (Sharp y colaboradores, 1943). Los valores para otros virus se indican en la tabla siguiente.

Densidad y tamaño. La densidad de los virus es una propiedad difícil de investigar cuando los agentes se encuentran en condiciones naturales, o sea, en medio húmedo. Sin embargo, para interpretar los diagramas de sedimentación, es esencial conocer esta propiedad, así como para calcular el tamaño de los virus según los datos de velocidad de sedimentación y estimar su contenido en agua. La velocidad de sedimentación de las partículas depende de su densidad en relación con la del

medio. En consecuencia, es teóricamente posible conocer la densidad de las partículas determinando su velocidad de sedimentación en medios de diferentes densidades. La mayor parte de las dificultades se ha debido a la falta de métodos apropiados para hacer variar la densidad de los medios. Se han hecho estudios con

PROPIEDADES FÍSICAS DE VIRUS PURIFICADOS

	Constante de sedimentación	Densidad en suspensión acuosa	Datos de tamaño y velocidad de sedimentación	Tamaño en microfotografías electrónicas	Volumen específico parcial	Contenido en agua
	× 10^{13}		mμ	mμ		% por vol.
Vacuna	4 910	1,160	236-252	222 × 284	0,793	
Papiloma	278	1,133	66	44	0,669	58
Encéfalomielitis equina (cepa del Este)	265				0,839	
Influenza A (cepa PR8)	742	1,104	116	101	0,822	52,0
Influenza B (cepa Lee)	840	1,104	124	123	0,863	34,5
Influenza porcina	727	1,100	117	96,5	0,850	43,3
Bacteriófago T_2	1 022					
(caldo)	695			80 × 100	0,655	

soluciones de diferente concentración de cloruro de sodio, sacarosa y urea. Con soluciones concentradas de sacarosa, la densidad del virus de la vacuna fué de 1,16 (Smadel, Pickels y Shedlovsky, 1938). Sin embargo, se observó que la densidad de las partículas aumentaba progresivamente con mayores concentraciones de los materiales en solución, probablemente debido a los efectos osmóticos del medio sobre las partículas. Para eliminar esta complicación, se empleó albúmina de suero bovino. Este material tiene un peso molecular elevado y, por lo tanto, las soluciones de concentración adecuada ejercen muy poca presión osmótica en comparación con las del cloruro de sodio o sacarosa, que son de peso molecular bajo. En soluciones de albúmina de suero bovino, la densidad de las partículas de virus no parece cambiar. Con este material, se obtuvieron densidades de 1,104, 1,104 y 1,100 para virus de influenza A y B y de influenza porcina respectivamente (Sharp y col., 1945). La densidad del virus del papiloma, estudiado en condiciones semejantes, fué de 1,133 (Sharp y col., 1946b). Todos estos valores son muy parecidos a los de las bacterias y otros organismos (Rufilli, 1933). La albúmina de suero bovino no es apropiada para el estudio de todos los virus; el bacteriófago T_2 y el virus del mosaico del tabaco no pudieron suspenderse en soluciones concentradas de la albúmina (Lauffer, 1947).

Los valores obtenidos de esta manera, representan probablemente la densidad de las partículas de virus húmedas, en condiciones naturales. Con estos datos, y el conocimiento de la densidad seca que es aproximadamente la recíproca del volumen específico parcial, determinado por medidas picnométricas (ver tabla), puede calcularse el contenido acuoso de las partículas. Los valores obtenidos con los virus de la influenza y papiloma, fueron de 52, 34,5, 43,3 y 58 por ciento en volumen.

En este respecto, se ha comprobado que, aunque la densidad de las partículas del virus de la vacuna aumentaba al principio al elevar la concentración de sacaro-

sa, disminuía posteriormente al estar en contacto prolongado con la solución de sacarosa concentrada (Smadel, Pickels y Shedlovsky, 1938). Quizá ello fuera debido a expulsión osmótica del agua, seguida más tarde de reincorporación de ésta al interior de la partícula. Se ha observado un comportamiento semejante con el virus de la influenza y se ha interpretado como indicador de que el virus estaría encerrado dentro de una membrana semipermeable (Sharp y col., 1944a, b).

Los resultados de la ultracentrifugación, por lo que se refiere a la uniformidad de tamaño o a su variación, han sido corroborados completamente con microfotografías electrónicas de los agentes respectivos. El tamaño estimado por mediciones de imágenes en microfotografías electrónicas, no debe considerarse exacto. Se ha comprobado que puede producirse retracción cuando se deseca el virus para la microfotografía electrónica y se tienen mayores razones todavía para sospechar encogimiento cuando las partículas se exponen al calor y al vacío de la cámara de sombreado. Los tamaños de las partículas de virus medidas en microfotografías electrónicas se comparan en la tabla con los volúmenes obtenidos por ultracentrifugación. Estos valores, obtenidos mediante microfotografías electrónicas suelen ser ligeramente menores que los de las partículas húmedas, estimados por ultracentrifugación. Tal como se ve en la tabla, los tamaños de los corpúsculos elementales de la viruela de pollos, viruela de canarios, molusco contagioso, psitacosis, ectromelia, mixoma del conejo y otros, están dentro de los límites de variación del tamaño de los cuerpos elementales de vacuna. Algunos de los bacteriófagos esféricos como T_7 de *E. coli*, miden alrededor de 50 mμ de diámetro. El fago T_2 de *E. coli* tiene una cabeza que mide cerca de 80 × 100 mμ y un cuerpo de unas 100 mμ de longitud. Las formas con aspecto de espermatozoide de la enfermedad de New-castle tienen cabeza de unas 70 mμ de ancho; toda la estructura, incluyendo la cola, mide cerca de 680 mμ de longitud.

Los tamaños de muchos virus han sido estudiados empleando membranas de colodión o filtros graduados, y los valores que se han obtenido constituyen la única indicación del tamaño de muchos de estos agentes (Elford, 1933, 1938). En general, los resultados obtenidos por ultrafiltración en condiciones apropiadas no han diferido grandemente de los obtenidos en investigaciones más recientes por microfotografía electrónica y ultracentrifugación. Los métodos empleados para estudiar el tamaño de los virus y los resultados hasta 1942 han sido revisados en detalle por Markham, Smith y Lea.

Constitución. La constitución química general de los principales virus de plantas, animales y bacterias, se encuentra en la tabla adjunta. Los virus de las plantas constan de proteína asociada con ácido nucleico (Stanley, 1938; Stanley, Knight y de Merre, 1945). El virus del mosaico del tabaco, que se ha estudiado intensamente por métodos químicos, consta principalmente de proteína. Sólo contiene el 6% de ácido nucleico, que es del tipo ribopentosa; el virus únicamente contiene la cantidad de carbohidrato que teóricamente está unida al ácido nucleico. El virus de la mancha anular del tabaco consta también de proteína y de ácido nucleico de tipo ribopentosa, pero este último constituye aproximadamente el 40 por ciento del peso seco del virus (Stanley, 1939b). Ninguno de los virus de las plantas contiene grasa. El contenido de aminoácido del virus del mosaico del tabaco se ha estudiado muy detalladamente (Ross, 1941).

En contraste con la constitución de los virus de plantas está la de los agentes que producen enfermedades en animales, hombres y bacterias. Estos últimos constan no sólo de proteína y ácido nucleico, sino que además contienen lípidos. Además, el tipo de ácido nucleico en los virus animales, humanos y bacterianos puede diferir del de-

los virus de las plantas. El ácido nucleico de los virus del papiloma (Taylor y colaboradores, 1942) y la vacuna (McFarlane y col., 1939; Hoagland, Smadel y Rivers, 1940) parece ser del tipo desoxipentosa. El virus de la encéfalomielitis equina sólo contiene el tipo ribopentosa (Taylor y col., 1943a), pero los virus de la influenza (Taylor y col., 1944; Knight, 1944c) y el bacteriófago T_2 (Taylor, 1946) de *E. coli* pueden contener algo de ambos tipos, predominando el primero. El bacteriófago T_2 contiene alrededor del 45 por ciento de ácido nucleico, cifra comparable con la de ácido nucleico en el virus de la mancha anular del tabaco. Los fagos estudiados por Schlesinger (1934, 1936) y Northrop (1938), contienen también mucho fósforo; ello indica alto contenido de ácido nucleico.

Los lípidos de los virus se han fraccionado en fosfolípidos, colesterol y grasa neutra. En general, la fracción mayor consiste en fosfolípidos. Dos de los agentes, el virus del papiloma y el bacteriófago T_2, contienen muy poco lípido. Debe notarse que el bacteriófago T_2 no contiene fosfolípido ni colesterol, diferenciándose en ello de los virus animales y humanos. El virus de la encéfalomielitis equina es de interés especial, puesto que casi en su mitad consiste en grasa.

CONSTITUCIÓN DE VIRUS PURIFICADOS

	Lípidos				Carbohidratos	Substancias no lípidas				
	Total	Fosfolípido	Colesterol	Grasa neutra	Total	Total	Proteína	Carbohidrato	Acido nucleico tipo D	Acido nucleico tipo R
Bacteriófago de caldo	2,6	0	0	2,6	13,6	97,4	50,6	13,1	40,3	6,6
Bacteriófago de medio sintético	1,8	0	0	1,8	11,7	98,2	52,4	11.2	44,6	1,3
Vacuna	5.7	2,2	1,4	2,2	2,8	94,0	89,0	2,8	5,6	
Papiloma	1,5				6,5	98,5	90,0		8,7	
Encéfalomielitis equina (cepa Este)	54,1	35,0	13,8	9,6	4,0	53,0	49,1	7,2		4,4
Influenza A (cepa PR8)	23,4	11,3	7,0	5,1	12,5	77,5	65,0	7,3	1,5	?
Influenza B (cepa Lee)	22,4	11,2	3,7	7,2	13,1	76,4	63,6	9,4	1,2	?
Influenza porcina	24,0	10,7	5,7	7.7	10,0	77.6	67,6	10,0	+	?
Bacteria en medio de caldo	7,75	7,75	0	0	12,5	92,3	67,9	12,5	5,2	19,1
Bacteria en medio sintético	9,11	9,11	0	0	11.6	90,9	67,7	11,6	2,0	20,9
Mosaico del tabaco						100	94			6
Mancha anular del tabaco						100	60			40

Todos los valores se dan en por ciento del peso seco del complejo total.

El carbohidrato es un constituyente del ácido nucleico y se encuentra en todos los virus estudiados hasta ahora. Sólo en el virus de la influenza hay una cantidad que excede de la que corresponde al ácido nucleico. Se han encontrado en este virus manosa, galactosa y glucosamina (Taylor, 1944; Knight, 1947a). El contenido de aminoácidos de los virus de influenza A y B, fué estudiado por Knight (1947b). La

constitución del virus de la influenza del pulmón de ratón, es esencialmente igual que la del virus obtenido del líquido corioalantoideo (Knight, 1946a).

Investigaciones ulteriores con corpúsculos elementales de vacuna han revelado la presencia de cobre que actúa como catalizador en la oxidación de la cisteína por los corpúsculos (Hoagland y col., 1941a). Estos cuerpos contienen biotina, factor de crecimiento capaz de estimular el desarrollo de *Clostridium butyricum* (Hoagland y col., 1940a). También contienen riboflavina, catalizador importante en el metabolismo celular (Hoagland y col., 1941b). Se relacionaron con estos corpúsculos actividades de fosfatasa, catalasa y lipasa, aun cuando no se pudo comprobar que fueron constituyentes esenciales (Hoagland y col., 1942). Sin embargo, a pesar de estudios repetidos, ninguno de los virus ha dado pruebas de actividad metabólica independiente (Parker y Smythe, 1937).

De tiempo en tiempo se han estudiado los efectos de las enzimas sobre los virus. Northrop (1926), comprobando resultados anteriores, demostró que la tripsina no digería organismos vivos. Los resultados obtenidos con virus se ilustran por los que lograron Hoagland y sus colaboradores (1940b) con el de la vacuna. La tripsina, la quimotripsina, la carboxipeptidasa y mezclas de las tres, actuando en los límites de pH de estabilidad del virus, carecen de acción. La ribonucleasa y la ficina a pH 7,0 y la catepsina no producen reacción. La papaína a pH 5,5 y la pepsina a pH 2,0 produjeron digestión cuando el virus se encontraba inactivado. Son difíciles de obtener resultados inequívocos en estudios de esta clase por la dificultad de titular el virus.

Los resultados del análisis químico revelan una variación insospechada y considerable en estructuras de entidades tan pequeñas. La estructura de los virus es cualitativamente semejante a la de la materia viva muy organizada. En la tabla se dan los resultados del análisis de *E. coli*, la célula huésped del bacteriófago T_2 (Taylor, 1946). La constitución esencial del huésped es semejante a la del parásito. Sin embargo, es interesante que *E. coli* no contiene colesterol o grasa neutra pero, en contraste con el bacteriófago, contiene fosfolípido. Esta diferencia permite comprender la autonomía del bacteriófago en sus procesos fisiológicos y en su multiplicación. El alto contenido de ácido nucleico del bacteriófago T_2 es comparable con el del esperma y las células del timo (Mirsky, 1943).

Propiedades eléctricas. Los virus, como las proteínas, son anfóteros; poseen una carga eléctrica positiva o negativa según el pH del medio. Los primeros estudios, hechos con un aparato relativamente simple, como era el de Todd (1927), y con virus en extractos tisulares complejos, sólo dieron resultados cualitativos. Con el aparato de electroforesis de Tiselius y preparaciones purificadas de virus, se han hecho estudios cuantitativos de distribución de cargas y el desplazamiento de estos agentes en un campo eléctrico. Por este medio se han estudiado diversos virus de plantas y animales. Los agentes de la papilomatosis del conejo (Sharp y col., 1942b), la vacuna (McFarlane, 1940; Shedlovsky y Smadel, 1940; Smadel y col., 1940) y la influenza humana tipo A (cepa PR8) (Miller, Lauffer y Stanley, 1944) se desplazan en una sola dirección en las preparaciones puras con un único límite definido, indicando homogeneidad de los componentes del preparado y gran homogeneidad electroforética en las partículas de virus. Con el virus de influenza B (cepa Lee), se encontró un límite doble (Miller, 1947). Todos los virus purificados hasta ahora examinados aglutinan y precipitan cerca de sus puntos respectivos isoeléctricos; para el virus de vacuna es de pH 4,3 a 4,6 (Beard, Finkelstein y Wyckoff, 1938); de 5,0 para el virus del papiloma del conejo (Beard y Wyckoff, 1938); de 5,0 para el virus de la influenza A (Miller, Lauffer y Stanley, 1944), y de 5,4 para el virus de

influenza B (Miller, 1947). Los estudios en la región isoeléctrica se hicieron con el aparato de microelectroforesis de Northrop-Kunitz (1925) con virus absorbido sobre partículas de colodión. Por encima del punto isoeléctrico, hacia la zona alcalina, los agentes se desplazan con carga negativa en dirección del ánodo; en la otra parte, la carga positiva produce la emigración hacia el cátodo. De los virus animales, sólo el agente de la papilomatosis del conejo es estable en el lado ácido del punto isoeléctrico.

Estabilidad. Lo mismo que en otras propiedades, los virus difieren grandemente en estabilidad, conservación de su capacidad infectante y otros atributos biológicos. Además, la estabilidad de un agente determinado varía mucho, según las condiciones del examen. La protección de los virus está facilitada por la presencia de constituyentes de los tejidos y proteínas; su estabilidad disminuye eliminando esos materiales en el proceso de purificación.

La velocidad de inactivación del virus en distintas condiciones depende grandemente de la temperatura. Algunos virus, por ejemplo, los de la vacuna y la influenza congelados en extractos de tejidos o en preparaciones que contienen materiales protectores, persisten indefinidamente con muy poca pérdida de poder infectante (Horsfall, 1939). Gran parte de la actividad del virus se pierde cuando se congelan preparaciones purificadas. Algunos de los agentes, desecados a partir del estado congelado, en los extractos de tejidos, conservan actividad durante largo tiempo. Algunos virus, en preparaciones no purificadas, sólo se inactivan a temperaturas relativamente altas. El virus del mosaico del tabaco se inactiva a 90° C. en diez minutos, y el del cólera de los cerdos a 60°—70° C. en una hora. Otros agentes se inactivan en unas cuantas horas a temperatura ambiente. La inactivación del virus de la influenza, en general, se acelera por agentes oxidantes, pero no por reductores (Knight y Stanley, 1944). Muchos virus pueden conservarse largo tiempo en tejidos, suspendidos en una mezcla de partes iguales de glicerina y solución salina fisiológica.

Los virus se inactivan rápidamente por el formol; éste se usa en la preparación de vacunas, como veremos luego (McLean y col., 1945). Con los virus purificados bastan bajas concentraciones; por ejemplo, 0,04% para el virus de la influenza, y 0,02% para el de la encéfalomielitis equina. Se necesita más formol para inactivar los virus en suspensión de tejidos; se tiene que emplear 0,5% para inactivar el virus de la encéfalomielitis equina en tejidos triturados de embrión de pollo. Los virus son sensibles a los desinfectantes corrientes, pero el virus del cólera del cerdo mantiene su actividad mucho tiempo en sangre total y fenol al 5%. Los jabones y detergentes son también agentes inactivantes (Stock y Francis, 1943).

La inactivación se acelera por la luz; depende de lo directa que sea la exposición. En preparaciones purificadas, la inactivación de los virus de la influenza (MacLean y col., 1945) y de la encéfalomielitis equina (Taylor y col., 1941), por ejemplo, se produce rápidamente con luz ultravioleta.

Se han hecho algunos de los estudios de estabilidad en relación con la concentración de hidrogeniones. En general, los virus animales, como los de la encéfalomielitis equina (Finkelstein y col., 1940), el de la vacuna (Beard, Finkelstein y Wyckoff, 1938) y el de la influenza (Miller, 1944), son más estables en medio alcalino, extendiéndose los límites desde aproximadamente pH 6 a pH 9. Con el bacteriófago T_2 de *E. coli* se observan límites semejantes (Sharp y col., 1946a). En contraste, el virus del papiloma es más estable en medio ácido cerca del punto isoeléctrico, entre pH 3,5 y 7,0 (Beard y Wyckoff, 1938).

El efecto de las diferentes sales no se ha estudiado en detalle. Los virus animales purificados precipitan en agua destilada y se dispersan en soluciones salinas 0,005 M

y de mayor concentración. El virus de la vacuna es inestable en soluciones salinas de concentraciones mucho mayores que 0,005 M, mientras que el virus del papiloma puede ser separado con soluciones saturadas de cloruro de sodio o soluciones semisaturadas de sulfato amónico. El virus de la influenza se perjudica por soluciones de contenido salino alto o bajo (Knight, 1944a). Algunos virus, como el de la encéfalomielitis equina, son más estables en solución de Ringer que en solución fisiológica de cloruro de sodio. Para cada agente hay que determinar las condiciones y relaciones óptimas.

Atributos biológicos. Los virus sólo pueden reconocerse en forma inequívoca por su capacidad para infectar células o huéspedes susceptibles, en contraste con la mayor parte de las bacterias y otros organismos que pueden identificarse y enumerarse por métodos de cultivo simples. En el estudio de los virus, la técnica fundamental es la titulación de la capacidad infectante por la administración de un número adecuado de diluciones seriadas al décimo, al quinto o al medio y el cálculo, por uno u otro método, del punto final. En algunos casos, como en el del cólera del cerdo, el mixoma del conejo y otros, en los cuales el huésped muere o sólo son observables las reacciones generalizadas, se necesita un huésped completo para cada dilución y estas titulaciones suponen el empleo y la pérdida del huésped, por cada inoculación, lo que suele resultar económicamente prohibitivo. El uso de embriones de huevo ofrece grandes ventajas para la titulación y el cultivo de agentes, como los de la influenza (Knight, 1944b), la vacuna y la parotiditis. Con algunos pueden usarse animales pequeños, como ratones, hámsteres y cobayos. Para otros (como vacuna, fibroma del conejo y papilomatosis del conejo), pueden inocularse varias muestras de diferentes diluciones en diversos puntos del mismo huésped.

El punto final de la titulación suele estimarse como el 50 por ciento final, o sea, aquella dilución que produce infección en la mitad de los inoculados y no la produce en la otra mitad. Para descubrirla, se hacen cinco diferentes diluciones dentro de los límites apropiados y cada una de ellas se inocula en cinco o más huéspedes; casi siempre se obtiene un resultado preciso. El punto final se calcula por el método de Reed y Muench (1938), aplicado a los virus por Parker y Rivers (1936b) y Parker (1938). Este método mide el número de unidades infecciosas de virus, no el número de partículas de virus. Con algún virus, como el de la papilomatosis del conejo (Bryan y Beard, 1940a) y el de la poliomielitis (Gard, 1940), se puede estimar la infecciosidad tomando como base el período de incubación o el tiempo que transcurre entre la inoculación del virus y la aparición de las lesiones o la enfermedad.

El número de partículas requeridas para causar la infección sólo puede medirse con los virus purificados y varía grandemente no sólo con los diferentes agentes, sino también con el mismo agente en distintas condiciones. La medida de una cepa de virus vacunal, mantenida durante mucho tiempo por pasos en piel de conejo, dió valores de 2,4 a 9 corpúsculos elementales por unidad infecciosa (Smadel, Rivers y Pickels, 1939). Un promedio de dos a tres partículas de fago T_2 en preparaciones purificadas fué suficiente para producir infección de *E. coli* (Hook y col., 1946). Sin embargo, está comprobado que una partícula de fago es suficiente para causar una placa en un cultivo en agar de *E. coli* (Hershey y Bronfenbrenner, 1941). Otras cepas de virus vacunal pueden necesitar 300 cuerpos elementales (Sprunt, Marx y Beard, 1940) o hasta 1 000 de ellos (McFarlane y col., 1939) para causar infección en el conejo. Cada preparación varía de un huésped a otro. Así, por ejemplo, el virus de la influenza del cerdo, mantenido mucho tiempo en embriones de pollo, puede dar un título en el líquido corioalantoideo de $10^{8,5}$ unidades infecciosas para

embriones y sólo de 10^2 unidades para los ratones. En contraste con los agentes altamente infecciosos, se necesitan alrededor de 50 millones de partículas de virus de papiloma del conejo para producir verrugas en este animal bajo las condiciones de la inoculación (Neurath y col., 1941).

Algunos virus aglutinan glóbulos rojos de las gallinas y otras especies. Este fenómeno, observado por primera vez por Hirst (1941, 1942), e, independientemente, por McClelland y Hare (1941) con los virus de la influenza, es de valor inestimable como método de titulación rápido y económico al estudiar agentes como los de la influenza del hombre y de los cerdos, parotiditis (Levens y Enders, 1945) y la enfermedad Newcastle de las gallinas (Burnet y Ferry, 1934). En el caso del virus de la influenza, la hemoaglutinación está relacionada con la cantidad de virus presente, pero puede ser producida por el agente totalmente inactivo que se obtiene por tratamiento con formol o luz ultravioleta.

Frecuentemente se necesita cultivar los virus fuera de los huéspedes normales. Esto puede lograrse inoculando células susceptibles en cultivos de tejidos apropiados. Se ha hecho uso de células dispuestas en capas en coágulos de plasma introducidas en tubos de cultivo (Feller, Enders y Weller, 1940). Se han empleado para cultivar muchos de los virus embriones desmenuzados u otros tejidos, en solución de Tyrode o suero diluído, principalmente con virus vacunal para producción de vacuna (Rivers, 1931). Igualmente se cultivan virus con células en crecimiento en coágulos de plasma por los métodos habituales de cultivos de tejidos (Parker, R. C., 1938).

Sin embargo, lo mejor es usar huevos embrionados de gallina (Woodruff y Goodpasture, 1931; Burnet, 1936a, 1938). Algunos de estos agentes, como los de la vacuna, laringotraqueítis de las gallinas y otros inoculados en la membrana corioalantoidea a través de un agujero hecho en el cascarón, producen lesiones locales y acumulación del virus. Los virus de la encéfalomielitis equina y el de la enfermedad Newcastle matan a los embriones. Los virus de la influenza, paperas (Habel, 1945) y enfermedad Newcastle se inoculan en el saco corioalantoideo. Los cultivos en embriones proporcionan una fuente de virus diferentes de encéfalomielitis equina, influenza, fiebre amarilla y laringotraqueítis para la preparación de vacunas en grande escala. Algunos de los agentes sólo alcanzan concentraciones relativamente bajas en los tejidos del huésped natural, pero las cantidades en el embrión o en el líquido corioalantoideo pueden ser extraordinariamente grandes. Pueden encontrarse, por gramo de cerebro de caballo, alrededor de 10^5 a 10^6 unidades infecciosas de virus de la encéfalomielitis equina por gramo de tejido de embrión; se alcanzan, después de 16 horas de inocular con el agente, títulos de 10^9 a 10^{10} unidades infecciosas (Tenbroeck, 1940). Los virus de la influenza, en 42 horas (McLean y col., 1944), el de la parotiditis, en cinco días (Henle, Henle y Harris, 1947), y el de la enfermedad Newcastle, en 36-38 horas (Cunha y col., 1947), alcanzan títulos cercanos a mil millones de unidades por c.c. de líquido corioalantoideo. La cantidad real de virus de influenza que se puede obtener es alrededor de 2 a 10 mg por 100 c.c. de líquido corioalantoideo, cantidad contenida en unos 15 huevos (Taylor y col., 1945).

Los bacteriófagos se propagan fácilmente en cultivos apropiados del organismo huésped. Se han hecho estudios profundos sobre la relación huésped-virus de numerosos fagos que parasitan *E. coli* (Delbrück, 1942, 1945-46, 1946). El fago T_2, sembrado en cultivos líquidos en proporción de una partícula de fago por 500 bacterias, produce la lisis del cultivo en ocho horas. En condiciones similares, el fago T_7 lisa el cultivo en dos horas. Los títulos de los fagos pueden alcanzar aproxima-

damente 10^{10} partículas activas por c.c. La masa de fago T_2 que puede recobrarse de tales cultivos en preparaciones purificadas es alrededor de 5 a 15 mg por litro (Hook y col., 1946).

La microfotografía electrónica da alguna idea de cómo los fagos atacan al huésped. En la figura 162 se observan partículas de fago T_2 adsorbidas o adheridas en la superficie del huésped, unos cuantos minutos después de la exposición. En la figura 163 se revela la apariencia carcomida de las bacterias y el escape del fago. No se conoce la manera como se multiplica el fago; sin embargo, en el caso del agente T_2, la lisis ocurre treinta minutos después de la exposición y se libera de cada cé-



FIG. 162.

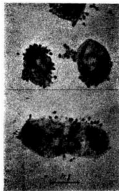


FIG. 163.

FIG. 162. BACTERIÓFAGO T_2 ABSORBIDO SOBRE E. COLI.

Microfotografía electrónica tomada cinco minutos después de hacer la mezcla. Aumento 14 000 ×.

FIG. 163. E. COLI LISADO POR EL BACTERIÓFAGO T_2.

Microfotografía electrónica. Aumento 12 000 ×.

lula bacteriana presente un promedio de cerca de 120 partículas de fago. Burnet (1948) ha expuesto el mecanismo posible de entrada de algunos virus en las células.

Las bacterias huéspedes en placas de agar también sufren la lisis por los fagos específicos; el agar se aclara completamente si la cantidad de bacteriófago es grande. Con un número adecuado de partículas de fago, aparecen regiones o placas claras. Estas varían en tamaño, aspecto y tiempo de formación (Delbrück y Luria, 1942). Las del fago T_7 de *E. coli* son fácilmente visibles en unas cuantas horas de incubación.

Fenómeno de interferencia. Ciertos virus pueden dificultar el desarrollo de otros virus o impedirles que produzcan enfermedades. En algunos casos, el efecto puede ocurrir solamente en un sentido, esto es, uno de los agentes interferirá con el otro, sin que éste último afecte al comportamiento del primero. En otros casos, los

virus se interferirán mutuamente. Este fenómeno, conocido hace cerca de veinte años, es de enorme importancia al estudiar los procesos fisiológicos en las relaciones huésped-virus y en la reproducción de los virus. De gran importancia práctica es el posible uso del fenómeno para proteger contra las infecciones de virus. Debe señalarse, sin embargo, que no todos los virus producen interferencia; dos o más virus pueden ocupar la misma célula (Syverton y Berry, 1947a, b).

La interferencia fué observada primero entre los virus que producen enfermedades en las plantas (McKinney, 1926); se han hecho estudios numerosos y extensos relacionados con este fenómeno en virus vegetales. Las investigaciones en este campo fueron revisadas por Price en 1940. Con los virus de las plantas, parece que solamente ocurre interferencia entre los agentes similares; y el fenómeno se ha usado para diferenciar y clasificar estos virus.

El primer caso de interferencia entre virus animales fué observado por Hoskins (1935), quien descubrió que una cepa neurotrópica de virus de fiebre amarilla protegía contra una cepa viscerotrópica del mismo, siempre que el primero se inoculara antes de transcurridas 24 horas después de la infección con el agente viscerotrópico. El efecto se observó en una sola dirección, ya que el virus viscerotrópico no afectaba el curso de la enfermedad causada por la cepa neurotrópica. Estos resultados fueron comprobados por Findlay y MacCallum (1937). Además, estos autores demostraron que tanto el virus viscerotrópico como el pantotrópico de la fiebre amarilla protegían a los ratones contra el virus de la fiebre del valle del Rift. Dalldorf y Douglass (1939) observaron una acción semejante en la protección de monos contra la poliomielitis por infección con virus de coriomeningitis linfocítica no relacionado con aquél. En 1940, Jungeblut y Sanders comprobaron que una cepa murina de virus de la poliomielitis, que habían obtenido a partir de la cepa SK de virus poliomielítico, protegía los ratones inoculados con este virus original SK de poliomielitis de mono. En este caso era muy íntima la relación entre las dos cepas de virus.

También entre los virus bacterianos o bacteriófagos se presenta la interferencia. Delbrück y Luria (1942) llevaron a cabo extensos experimentos sobre supresión del fago α (T_1) de *E. coli* por el fago γ (T_2) también de *E. coli*, agentes que serológicamente no guardan relación. El significado del fenómeno fué extendido todavía más cuando Luria y Delbrück (1942) encontraron que el fago γ (T_2) inactivado con luz ultravioleta conservaba la capacidad de impedir el desarrollo del fago α (T_1). Además, el fago γ (T_2) inactivado interfería con el crecimiento del fago γ (T_2).

Acerca del fenómeno de interferencia hay varios estudios sobre los diferentes virus de influenza en los últimos años. Andrews (1942) estudió la interferencia entre cepas de virus de influenza en cultivos de tejidos; Henle y Henle (1944a) observaron interferencia homóloga entre los virus de influenza pasados por embrión de pollo. Cuando se efectuó la siembra con gran cantidad de virus de influenza sometido a pasos previos —líquido corioalantoideo infectado— para inocular otro embrión, se formó mucho menor cantidad de virus nuevo que si se hubiera usado una pequeña cantidad de aquél. El uso de la dosis menor eficaz produjo una cantidad mucho mayor del virus formado en los embriones inoculados, resultado que es de gran significado práctico, puesto que estos embriones se usan en la preparación de virus de influenza para vacunas. La interferencia en este caso se encontró que era debida al virus de influenza inactivo que se había acumulado en el líquido corioalantoideo durante el período de cultivo en el embrión. Cepas inactivas de virus A de influenza interferían con la propagación de virus de influenza A, y el virus de influenza B, inactivo, interfería a su vez con la propagación del virus B. Estas ac-

ciones podían producirlas los virus respectivos inactivados con luz ultravioleta (Henle y Henle, 1944b; Ziegler y Horsfall, 1944; Ziegler, Lavin y Horsfall, 1944). Pudieron demostrarse relaciones recíprocas entre los virus de influenza A y B inactivados, y el virus de la influenza porcina (Ziegler y Horsfall, 1944; Ziegler, Lavin y Horsfall, 1944; Henle y Henle, 1945a, b). Además, se comprobó que el virus de influenza irradiado suprimía el crecimiento de la cepa Oeste de encéfalomielitis equina y del virus de la queratoconjuntivitis epidémica en embriones de pollo. Se produce interferencia heteróloga entre los virus activos de los tres tipos de influenza (Ziegler y Horsfall, 1944). Recientemente, Henle, Henle, y Rosenberg (1947) han usado el fenómeno de interferencia para estudiar la multiplicación del virus de influenza en el embrión de pollo y han demostrado curvas de crecimiento "de una fase" en los virus de influenza A y B, semejantes a las curvas de una fase obtenidas con bacteriófagos (Ellis y Delbrück, 1939).

No se conoce el mecanismo de interferencia. Entre los virus de las plantas se ha considerado como inmunidad cruzada (Price, 1940), pero trabajando con virus animales resulta evidente que la supresión del crecimiento del virus no guarda relación con los procesos comunes de inmunidad. El efecto interferente se relaciona con el tiempo de exposición de los dos agentes, uno al otro, y el intervalo es demasiado corto para permitir el desarrollo del proceso de inmunidad. Además, la interferencia ocurre entre virus que no están relacionados inmunológicamente. El efecto se ejerce rápidamente, y todavía no se sabe si está dirigido contra la entrada del virus en el interior de la célula, sobre la célula durante la multiplicación del virus en su interior o bien sobre el mecanismo que regula la salida del virus. Findlay y MacCallum (1937), Delbrück y Luria (1942), Luria y Delbrück (1942), y Ziegler y Horsfall (1944) han sugerido varias posibilidades.

Inmunidad y fenómenos inmunológicos. Como hemos indicado, algunos virus presentan alto grado de especificidad de huéspedes de especie o incluso de célula. En consecuencia, algunos huéspedes son naturalmente inmunes o altamente resistentes a la infección; inversamente, tales huéspedes constituyen un medio inadecuado para la invasión y propagación de los agentes. Sin embargo, esta relación puede no ser inalterable, ya que el virus del cólera de cerdo, considerado específico para los porcinos, recientemente se ha podido transmitir al conejo (Koprowski y col., 1946; Baker, 1946). Numerosos casos de adaptación, variación y mutación han señalado un margen de tolerancia entre virus y huéspedes más amplio de lo que se había pensado (Burnet, 1945). Pueden observarse grandes diferencias en la resistencia natural o susceptibilidad de las diferentes especies de animales, como en el caso de la infecciosidad del virus vacunal en conejos, comparada con la infecciosidad del mismo virus para los cobayos (Parker, Bronson y Green, 1941). La resistencia natural o susceptibilidad de los individuos puede variar grandemente entre una población de huéspedes relativamente muy sensibles. La resistencia y la susceptibilidad del huésped, así como las propiedades del virus, influyen en el carácter de la respuesta a la infección (Bryan y Beard, 1940b). No se han encontrado conejos domésticos completamente resistentes al virus del papiloma, pero la cantidad de virus necesaria para infectar un animal puede ser miles de veces mayor que la que se requiere para infectar a otro (Bryan y Beard, 1939). Se han observado variaciones cualitativamente semejantes con el virus de la vacuna y otros agentes. La influencia de la constitución genética se demostró experimentalmente en estudios de encefalitis en ratones (Webster y Clow, 1936a, b). En algunos casos, la edad puede ser factor importante. Los ratones jóvenes son más susceptibles que los animales adultos a la encéfalomielitis equina (Sabin y Olitsky, 1938), mientras

que los muy jóvenes son relativamente resistentes al virus del papiloma. Los trastornos nutritivos pueden disminuir la susceptibilidad (Sprunt, 1942); las alteraciones celulares aumentan la capacidad de algunos agentes para invadir las células como demostraron con los virus tumorales de los pollos Rous, Murphy y Tytler (1912).

La resistencia puede adquirirse activamente, como resultado de enfermedades o de vacunación. Los mecanismos de la inmunidad postinfecciosa en las enfermedades por virus, como en las afecciones producidas por otros agentes infecciosos, difieren tanto como el carácter y la complejidad de las diferentes enfermedades (Francis, 1947). La infección por determinados agentes va seguida de inmunidad de larga duración para la reinfección, como sucede en la viruela, fiebre amarilla, cólera del cerdo, vacuna, sarampión y parotiditis. Primeramente se pensó que la inmunidad estaba asociada con la persistencia del virus en los tejidos del huésped recuperado, pero no se han podido demostrar los virus respectivos en los tejidos del huésped después de la curación de las enfermedades antes indicadas. A causa de la poca frecuencia de infecciones repetidas en muchas de las enfermedades producidas por los virus, se creyó durante muchos años que la inmunidad duradera era un aspecto característico de las virosis. Se ha demostrado, sin embargo, que esto no es así y que, en muchos casos, la inmunidad postinfecciosa no es ni completa ni durable. Ejemplos de enfermedades de esta clase son las producidas por los virus del grupo psitacosis-linfogranuloma venéreo y los de la coriomeningitis linfocítica y del herpes. En estas enfermedades pueden persistir los virus en los tejidos. Sin embargo, los virus de la influenza y del catarro común, que tampoco producen inmunidad duradera, no suelen permanecer en los tejidos. En algunas otras enfermedades, como en los tumores de los pollos y en diversos papilomas, puede haber alto grado de inmunidad a la reinfección en animales portadores de tumores que llevan a la muerte del huésped, mientras los virus se encuentran en cantidad en las células proliferantes (Kidd, Beard y Rous, 1936).

La inmunización activa con vacunas de distintas clases es de gran valor en la lucha contra algunas virosis del hombre y de los animales. Se emplean con éxito distintos principios de vacunación y diversos tipos de vacuna. En algunos casos, se utilizan virus totalmente activos y virulentos, más o menos modificados. El virus de la laringotraqueítis, virulento cuando se inocula por vía respiratoria, se introducen en la membrana de la cloaca de las gallinas (Hudson y Beaudette, 1932). Se usa el mismo principio de administración por vía anormal en la introducción intramuscular del virus activo de la psitacosis, que normalmente penetra por vía respiratoria (Rivers y Schwentker, 1934). El virus virulento del cólera del cerdo se administra subcutáneamente en un lugar, mientras que se aplica simultáneamente en otro suero inmune (Hutyra, Marek y Manninger, 1938).

Se aplica otro principio cuando se emplea un virus plenamente activo, pero que se ha atenuado para el huésped correspondiente. Como ejemplo tenemos el virus de la fiebre amarilla que ha sido atenuado para el hombre por pasos en embrión de pollo (Smith, Penna y Paoliello, 1938), y el virus de la rabia, atenuado por numerosos pasos en el conejo. Se ha usado para vacunación humana virus de influenza totalmente activo, cultivado en embrión de pollo, de baja infecciosidad para el primero (Burnet, 1942). Otro método de vacunación con virus activos consiste en usar agentes inmunológicamente relacionados; se emplea, para la vacunación del hombre contra la viruela, el virus vacunal que produce las pústulas en la ubre de las vacas cultivado en terneras; el virus de la viruela de las palomas protege a los pollos contra la viruela de las gallinas. En todos estos casos, la inmunidad resultante está relacionada con la multiplicación del virus en el huésped vacunado.

La vacuna ideal es aquella que sólo consta de virus completamente inactivado, puesto que el uso de agentes activos no deja de presentar peligros y, además, el manejo del virus activo y la conservación de su actividad plantean dificultades prácticas. En general, las vacunas de virus inactivados no han sido de gran valor, debido, en parte, a las dificultades para obtenerlos suficientemente concentrados. Sin embargo, en algunos casos puede resultar eficaz el virus inactivado en suficiente concentración. En el caballo se obtiene gran resistencia a la encéfalomielitis equina con virus cultivado en embrión de pollo e inactivado con formol (Beard, Finkelstein, Sealy y Wyckoff, 1938). Esta vacuna se ha usado también para proteger al hombre (Beard, Beard y Finkelstein, 1940), en el cual los anticuerpos neutralizantes persisten durante meses (Beard, Finkelstein y Beard, 1941). Otra vacuna de este tipo es la de virus de influenza cultivado en embrión de pollo, concentrado por hemoaglutinación y lavado (Salk, Menke y Francis, 1945) o por centrifugación (Stanley, 1945; Taylor y col., 1945) e inactivado por tratamiento con formol (McLean, Beard y Beard, 1947). El éxito fué menor con otros virus inactivados, como, por ejemplo, el de la vacuna (Parker y Rivers, 1936a). El método de inactivación del virus es de gran importancia. La inactivación con formol tiene poca o ninguna acción sobre el poder antigénico; la inactivación con luz ultravioleta puede muy bien no destruirlo. No pudo descubrirse diferencia alguna entre la capacidad productora de anticuerpos del virus inactivado con luz ultravioleta y la del virus tratado con formol (McLean y colaboradores, 1945).

Los principales factores, en la inmunidad adquirida, son los anticuerpos humorales (Burnet, Keogh y Lush, 1937; Craigie, 1939). Estos anticuerpos, encontrados en la fracción globulina gamma del suero sanguíneo poseen distintos grados de capacidad: 1) para neutralizar la actividad del virus; 2) para aglutinar los agentes respectivos en concentraciones apropiadas *in vitro;* 3) para precipitar ciertos antígenos solubles asociados con algunos virus; 4) para fijar el complemento en condiciones adecuadas de virus y de concentración de suero.

En algunas enfermedades la protección contra la reinfección se puede explicar principalmente por los anticuerpos neutralizantes. En tales condiciones, las puertas de entrada al organismo y a los tejidos (donde ha de localizarse el virus) están tan separadas que los anticuerpos en el torrente circulatorio y en los tejidos tienen oportunidad para destruir a los agentes antes que alcancen las células susceptibles y establezcan la infección. En este grupo pueden ser incluídas enfermedades como la viruela y el sarampión, ambas de tipo eruptivo y en las cuales el virus penetra por el aparato respiratorio. Otras de este tipo son el cólera del cerdo y las enfermedades transmitidas por picaduras de insectos, como la fiebre amarilla y la encéfalomielitis equina, en las cuales el virus tiene que pasar al torrente circulatorio para causar la infección.

Es comprensible la falta de efecto protector de los anticuerpos en el caso de los tumores de las gallinas y de los papilomas, puesto que las células infectadas mantienen su integridad y están en continua proliferación, proporcionando al virus una protección constante contra los anticuerpos (Rous, McMaster y Hudack, 1935). A pesar de que se producen anticuerpos por la influenza y los títulos estadísticamente guardan relación directa con la resistencia (Rickard y col., 1941), se presentan infecciones repetidas. Por los cambios celulares en el aparato respiratorio (Francis, 1941-42), debe de producirse alguna resistencia de duración temporal. La falta de inmunidad duradera en la influenza y en el catarro común es aplicable, en parte, por los caracteres de la infección que afecta la mucosa del sistema respiratorio, donde no puede interponerse una barrera eficaz por los anticuerpos circulantes.

La inmunidad pasiva puede conferirse temporalmente por administración de suero inmune específico, pero el procedimiento tiene poco valor en el tratamiento de las enfermedades por virus una vez que ha ocurrido la infección. El suero de convaleciente puede disminuir la gravedad del sarampión, pero la enfermedad modificada a veces no proporciona inmunidad duradera (Francis, 1947). Recientemente, Friedemann (1947) ha tratado algunos problemas sobre reacción de anticuerpos con virus neurotrópicos *in vivo*.

La reacción de neutralización es valiosa en el diagnóstico y en estudios epidemiológicos, en la identificación y diferenciación de los virus, en la determinación de las relaciones inmunológicas o antigénicas de los virus y para probar la potencia de los antisueros. El carácter de los experimentos de neutralización está ilustrado por los resultados con la influenza (Horsfall, 1939) y el virus del papiloma del conejo (Bryan y Beard, 1941). Las pruebas pueden realizarse en huéspedes homólogos o en otras especies susceptibles. Los huevos embrionados son de valor considerable como huéspedes de prueba, en algunos casos (Burnet, 1936b). Los anticuerpos neutralizantes para los virus de influenza, parotiditis y enfermedad Newcastle inhiben las propiedades hemoaglutinantes de estos agentes, proporcionando así un método rápido y económico para estudiar el contenido de anticuerpos de los sueros en estas enfermedades (Hirst, 1942).

Las reacciones de aglutinación y de fijación del complemento se obtienen con sueros de inmunizados contra el virus, cuando los dos reactivos se encuentran en cantidades adecuadas (Merrill, 1936; Burnet, Keogh y Lush, 1937; Craigie, 1939). Estas reacciones, al igual que las pruebas de neutralización, son de gran valor diagnóstico y en las investigaciones epidemiológicas y de identificación de virus. En la reacción de aglutinación con los virus, igual que en la reacción análoga con bacterias, el suero actúa sobre las partículas del virus, produciendo aglomeración y la separación y caída de los flóculos de la suspensión. En la figura 164 se presenta una microfotografía electrónica del virus del raquitismo del tomate, aglutinado por antisuero de conejo. En contados casos se presenta suficiente cantidad de virus en los tejidos enfermos para demostrar la reacción, pero no se han hecho estudios con virus más o menos purificados en gran número de enfermedades como la vacuna (Craigie y Wishart, 1934), psitacosis (Bedson, 1933), herpes zoster y varicela (Amies, 1934), mixomatosis del conejo (Rivers y Ward, 1937) e influenza. Se han hecho también estudios cuantitativos con el virus del mosaico del tabaco (Beale y Lojkin, 1944; Malkiel y Stanley, 1947) y el de la influenza (Knight, 1946b). La reacción de fijación del complemento requiere menos antígeno; puede emplearse en algunos casos extractos de tejidos enfermos. Se ha obtenido esta reacción con muchos de los virus, como en la fiebre amarilla (Perlowagara y Lennette, 1944), vacuna (Craigie y Wishart, 1936a, b, c), herpes febril (Bedson y Bland, 1929), psitacosis (Bedson, 1937), herpes zoster (Bedson y Bland, 1929), influenza (Hoyle, 1945; Rice, 1947), mixomatosis infecciosa del conejo (Rivers y Ward, 1937), papiloma del conejo (Kidd, 1938; Bryan, Beard y Beard, 1940), parotiditis (Henle, Henle y Harris, 1947) y linfogranuloma venéreo (McKee, Rake y Shaffer, 1940). La reacción, como método diagnóstico, es de particular valor en el linfogranuloma venéreo (Rake y col., 1941).

Se han observado, en relación con diversos virus, reacciones de precipitación que suponen antígenos *solubles* presentes en los tejidos enfermos por virus. Estas reacciones son análogas a las de precipitación asociadas con productos solubles y toxinas de bacterias, a diferencia de las reacciones de aglutinación, que implican la presencia de partículas bacterianas o virósicas íntegras. Dos de los antígenos pre-



FIG. 164. FLÓCULOS DE VIRUS DE RAQUITISMO DEL TOMATE AGLUTINADO CON ANTISUERO DE CONEJO.

Microfotografía electrónica. Las partículas muy pequeñas que forman el fondo tienen aproximadamente el tamaño que corresponde a las moléculas de seroglobulina. Aumento 50 000 ×. (Según Wyckoff, *Chemické Listy*, 1948, 42:38.)

cipitantes del virus vacunal son las substancias L. termolábil y S. termoestable (Craigie y Wishart, 1934; 1936a, b, c; Rivers, 1943). Se han encontrado substancias algo similares en la mixomatosis infecciosa (Rivers y Ward, 1937; Rivers, Ward y Smadel. 1939) y en otras infecciones por virus.

En la mayor parte de las enfermedades por virus, ni los sulfamídicos ni la penicilina o la estreptomicina son eficaces para neutralizar estos agentes *in vitro* o como

medios terapéuticos (Jones, Rake, Stearns, 1945; Hamre y Rake, 1947). Como excepciones podemos citar la eficacia de las sulfonamidas en la inactivación *in vitro* del virus del linfogranuloma venéreo y en el tratamiento de esta enfermedad, el tracoma, inclusiones blenorreicas y neumonitis del ratón (Rake, Jones, Nigg, 1942). La penicilina es activa, tanto *in vitro* como *in vivo*, contra los virus del linfogranuloma venéreo y de la neumonitis felina. La estreptomicina y la estreptotricina son ineficaces para ambos (Hamre y Rake, 1947). Esta diferencia entre la respuesta de las bacterias y los virus a los antibióticos tiene gran valor para aislar los virus de tejidos enfermos y secreciones fuertemente contaminados (Hirst, 1945; Lowell y Buckingham, 1946).

Variación y mutación. El fenómeno de la variación y mutación, familiar para los que trabajan con bacterias y organismos superiores, se observa continuamente en el campo de los virus (Findlay, 1939; Burnet, 1945). En condiciones naturales y artificiales, se pueden comprobar estos hechos. No se comprende el mecanismo responsable de ello, pero no existe razón para suponer que difiera fundamentalmente del proceso análogo que ocurre en los organismos superiores. Una de las experiencias más frecuentes con la variación o mutación de los virus es la *adaptación* experimental de un agente a un huésped nuevo. Esto se ha logrado, por ejemplo, con los cultivos en embrión de pollo de virus de la influenza, parotiditis, encefalomielitis equina y muchos otros. En el paso del virus del cólera del cerdo por conejos, mencionado antes, se presenta una adaptación muy neta. También ocurren cambios manifiestos en virus de influenza pasado por ratones (Hirst, 1947a). En tales casos pueden observarse profundas alteraciones en el poder patógeno y en la virulencia de estos agentes, no sólo para el nuevo huésped, sino también para el original, como sucede con el virus de la fiebre amarilla cultivado en embriones de pollo (Fox y Laemmert, 1947). En el nuevo huésped, el agente puede estabilizarse en cuanto a tipo de cultivo y poder patógeno. Un ejemplo clásico de este proceso es la *fijación* del virus de la rabia en el conejo. Estas propiedades son de gran valor cuando se estudian estos agentes o se preparan vacunas.

En condiciones naturales es frecuente la variación; ello es de gran importancia, como factor epidemiológico, desde el punto de vista de la morbilidad y mortalidad del huésped, así como de la supervivencia del virus (Burnet, 1945). Algunos virus tienen como característica la frecuencia con que aparecen nuevas cepas en condiciones naturales. Este fenómeno se ha estudiado extensamente en el caso del agente de la influenza; en realidad, no puede tener mucha importancia en la recurrencia de las epidemias o de los ataques en el individuo (Hirst, 1947a). En algunos casos puede aumentar la virulencia; en otros, la variación puede disminuirla.

En algunos casos, la variación alcanza las proporciones de una mutación. El virus de la viruela pasado por la vaca, o, en condiciones apropiadas, por el conejo, sufre una mutación irreversible; en este último animal se transforma en virus de vacuna, un agente inmunológicamente semejante (Morgan, 1938). Se ha descrito en un bacteriófago la mutación discontinua (Burnet y Lush, 1936). Con el virus de la influenza se produce una mutación notable al pasarlo del hombre al embrión de pollo (Burnet y Bull, 1943; Burnet, 1945). De la fase O original, el agente se transforma en la fase D o derivada, que posee propiedades netamente diferentes en cuanto a la aglutinación de los glóbulos rojos e infecciosidad para el hombre y el embrión de pollo. Una mutación más neta es la que se efectúa artificialmente en el caso del virus Shope del fibroma del conejo. Este virus, tratado con virus de mixoma inactivado, adopta la virulencia y las propiedades patógenas del virus de la mixomatosis infecciosa (Berry y Dedrick, 1936).

Hay pruebas que indican que los diferentes cambios no ocurren como consecuencia de una adaptación lenta a nuevos ambientes, sino como resultado de mutación espontánea. En las bacterias ocurren mutaciones de esta clase que pueden descubrirse y estudiarse de manera relativamente fácil. Las pruebas se observaron en el cambio O-D del virus de influenza antes mencionado; se estimó que la fase mutante D se presenta una vez por cada 10^5 a 10^6 partículas formadas en la multiplicación de la cepa de fase O (Burnet, 1945).

RESUMEN SOBRE LA NATURALEZA DE LOS VIRUS

Los resultados de los estudios sobre caracteres de los virus en los últimos cincuenta años han tendido a eliminar muchos puntos obscuros acerca de la naturaleza de los virus. Dificultades naturales muy grandes, como el poco volumen y la incapacidad para crecer en medios simples, retrasaron grandemente el progreso en este campo, de modo que en muchos aspectos se tuvo que esperar a que apareciesen nuevas técnicas para proseguir el examen. El desarrollo de conocimientos y conceptos acerca de los virus, se ha complicado también por la confusión de términos. Sin embargo, las ideas e incertidumbres en relación con la naturaleza de los virus no difieren grandemente de las que se originaron en relación con la naturaleza de otras entidades biológicas. Los conocimientos sobre virus vienen a ser los conceptos que sobre la naturaleza de las bacterias se tenían hace un siglo (Rivers, 1938).

La mayoría de los investigadores experimentados en anatomía patológica y otras disciplinas biológicas han considerado los virus como microorganismos de una u otra clase. Esto ha sucedido especialmente con aquellos que trabajan con formas de volumen relativamente grande, los cuerpos elementales asociados con los corpúsculos de inclusión, por tanto observables por examen directo. El acopio de conocimientos con los estudios más recientes se ha logrado mediante exámenes químicos, físicos y morfológicos que han servido para establecer firmemente el concepto de que los virus no se diferencian fundamentalmente de los organismos vivos. Por los caracteres sujetos a examen, estos agentes forman un sistema continuo con los organismos superiores. Que la serie biológica no contiene ningún punto de discontinuidad se indica claramente por la carencia de criterio definido que sirva para diferenciar inequívocamente los virus de las formas superiores.

Claramente se observa cómo se sobreponen muchas de las propiedades de los virus y de los organismos superiores. En tamaño, los virus mayores hállanse a nivel de los organismos de la pleuroneumonía y de las rickettsias; los estudios morfológicos de los virus suficientemente grandes para examen con microfotografías electrónicas revelan estructuras de diferenciación interna, característica de las células vivas. Hay pruebas también de estructuras limitantes parecidas a membranas celulares, que, en las formas examinadas para estudiar este carácter, se comportan como membranas semipermeables. Los virus están constituídos por los mismos componentes químicos que la materia viva; algunos de los examinados más minuciosamente se encuentran organizados para dar pruebas, cuando menos, de contener sistemas enzimáticos rudimentarios respiratorios y de crecimiento. Debe señalarse que los pocos conocimientos acerca de muchos de los caracteres de esos virus se explican, en parte, porque el número de estudios ha sido limitado. Por su tamaño en la escala descendente, es obvio que los virus no pueden poseer la organización de las formas superiores, pero no se conocen sus potencialidades biológicas dentro de la célula huésped. Respecto a las relaciones huésped-célula, los virus no son separables de las rickettsias ni hay

separación definida de las bacterias en relación con las necesidades para la multiplicación. En este aspecto, los organismos de la pleuroneumonía, que son filtrables y se han incluído entre los virus, pueden ser cultivados en medio artificial. Muchos de los virus son semejantes a las rickettsias en la formación de cuerpos de inclusión, que en algunos casos se sabe son colonias de partículas de virus; es notable que los organismos de la pleuroneumonía se multipliquen sobre medios sólidos como colonias limitadas. Por las diferencias en la composición del bacteriófago T_2 y su huésped *E. coli,* hay pruebas de autonomía en la multiplicación de este agente. La capacidad de los virus para variar biológicamente cuando las condiciones cambian y para presentar mutaciones son caracteres de organismos vivos.

En todos los campos las investigaciones con virus animales aumentan continuamente, destruyendo una a una las diferencias que han servido para colocar a los virus aparte de otros agentes infecciosos. Se ha dado mucha importancia, como criterio diferencial, a la inmunidad de alto grado producida por algunos virus, pero esta cualidad ni es única de los virus ni corresponde a todos ellos. En un tiempo pareció que los virus eran más resistentes a la agresión, y algunos de ellos, como los del mosaico del tabaco y del cólera del cerdo, son muy resistentes a los agentes químicos y físicos que matan la mayor parte de las bacterias. Es notable que algunas de las bacterias termófilas (Gaughran, 1947) crecen a temperaturas que inactivan cualquier virus (89° C.); algunas de las bacterias del azufre (Umbreit, 1947) se multiplican en medios que contienen 5 a 7 por ciento de ácido sulfúrico, y que, por lo tanto, no resistiría ningún virus.

En contraste con la creencia de que los virus son organismos, está la idea de que, en general, estos agentes, y particularmente los virus de las plantas, son moléculas de núcleoproteína. Estos conceptos, mantenidos principalmente por físicos y químicos, se basan en resultados fisicoquímicos obtenidos con virus de plantas. La creencia de que los virus pueden ser "agentes químicos" (Rivers, 1941a) se funda en la simplicidad relativa de la estructura de los virus de las plantas, pero inicialmente se basó en la homogeneidad física de las preparaciones puras de virus de las plantas, determinada por centrifugación, electroforesis, difusión y otros métodos (Lauffer, 1941). La formación de cristales por algunos virus de plantas, si no un criterio de naturaleza molecular, constituye una diferencia única entre éstos y otros agentes infecciosos. Es evidente que las partículas de algunos agentes, incluyendo los que causan enfermedades en animales y los bacteriófagos, dan prueba de homogeneidad que las asemeja a las de las moléculas, pero esta propiedad sólo constituye una analogía con materiales moleculares. Todavía se carece de una demostración química clásica de estructura molecular. En general, los conceptos sobre estructura molecular se han ampliado enormemente en los últimos años, y si el concepto de los virus como moléculas significa que deben considerarse una unidad funcional o un agregado estable, los virus, como cualquier otra unidad celular, pueden considerarse también moléculas.

Aun cuando se han expresado muy diversas teorías en los últimos años (Alexander y Bridges, 1929; Green, 1935; Jennings, 1936; Gortner, 1938; Rivers, 1938, 1939; Bawden, 1939; Stanley, 1939a; Mirsky, 1943; Wyckoff, 1945), la naturaleza biológica de los virus no se ha establecido definitivamente.

La solución del problema no carece de importancia, tanto práctica como teórica. La tesis de la estructura molecular permite admitir que los virus sean inanimados y que estén formados por la célula huésped más que por procesos autónomos reproductivos y fisiológicos. El conocimiento de estos procesos contribuiría mucho a indicar la dirección del tratamiento y la prevención de las virosis. Hasta el momento, y más

cada día, la generalidad de las opiniones tienden a mantener que los virus son microorganismos naturales con vida propia. El origen y reacciones biológicas de estos agentes constituye uno de los problemas más atractivos y prometedores en el campo de las enfermedades infecciosas.

BIBLIOGRAFIA

Ahlström, C. R. *J. Path. & Bacteriol.*, 1938, 46:461.
Alexander, J., and Bridges, C. B. *Science*, 1929, 70:508.
Amies, C. R. *Brit. J. Exper. Path.*, 1934, 15:314.
—— *J. Path. & Bacteriol.*, 1938, 47:205.
Anderson, T. F. *J. Cell. & Comp. Physiol.*, 1945, 25:1.
Andrewes, C. H. *Brit. J. Exper. Path.*, 1942, 23:214.
A System of Bacteriology in Relation to Medicine, Published by His Majesty's Stationery Office, London, 1930, 7.
Baker, J. A. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1946, 63:183.
Barnard, J. E. *Lancet*, 1925, 2:117.
—— *Brit. J. Exper. Path.*, 1935, 16:129.
—— *Proc. Roy. Soc. B.*, 1937, 124:107.
—— and Elford, W. J. *Proc. Roy. Soc. B.*, 1931, 109:360.
Bauer, J. H., and Pickels, E. G. *J. Exper. M.*, 1936, 64:503.
Bawden, F. C. *Plant Viruses and Virus Diseases*, Chronica Botanica Company, Leiden, 1939.
—— and Pirie, N. W. *Brit. J. Exper. Path.*, 1938, 19:251.
Beale, H. P., and Lojkin, M. E. *Contrib. Boyce Thompson Inst.*, 1944, 13:385.
Beams, J. W., Pickels, E. G., and Weed, A. J. *J. Chem. Phys.*, 1934, 2:143.
Beard, D., Finkelstein, H., and Beard, J. W. *J. Immunol.*, 1941, 40:497.
Beard, J. W. *J. Immunol.*, 1948a, 58:49.
—— *Physiol. Rev.*, 1948b (en prensa).
——, Beard, D., and Finkelstein, H. *J. Immunol.*, 1940, 38:117.
——, Bryan, R., and Wyckoff, R. W. G. *J. Infect. Dis.*, 1939, 65:43.
—— Finkelstein, H., Sealy, W. C., and Wyckoff, R. W. G. *Science*, 1938, 87:490.
——, Finkelstein, H., and Wyckoff, R. W. G. *J. Immunol.*, 1938, 35:415.
—— and Rous, P. *J. Exper. M.*, 1934, 60:723.
—— *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1935, 33:191.
—— and Wyckoff, R. W. G. *J. Biol. Chem.*, 1938, 123:461.
Beaudette, F. R. Proc. Forty-Seventh Annual Meeting of the United States Live Stock Sanitary Association, December 2, 3, 4, 1943, 122.
Bedson, S. P. *Brit. J. Exper. Path.*, 1933, 14:162.
—— *Lancet*, 1937, 2:1477.
—— and Bland, J. O. W. *Brit. J. Exper. Path.*, 1929, 10:393; 1934, 15:243.
Beijerinck, M. W. *Zentr. Bakt. Parasitenk.*, Abt. II., 1899, 5:27.
Bergey's *Manual of Determinative Bacteriology*. Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1948, 6th ed.
Berry, G. P., and Dedrick, M. *J. Bacteriol.*, 1936, 31:50.
Biscoe, J., Pickels, E. G., and Wyckoff, R. W. G. *J. Exper. M.*, 1936, 64:39.
Bollinger, O. *Arch. Pathol. Anat. u. Physiol.*, 1873, 58:349.
Borrel, A. *Compt. rend. Soc. de biol.*, 1904, 57:642.
Boswell, F. W. *Brit. J. Exper. Path.*, 1947, 28:253.
Brandly, C. A., Moses, H. E., Jungherr, E. L., and Jones, E. E. *Am. J. Vet. Res.*, 1946, 7:243.
Bryan, W. R., Beard, D., and Beard, J. W. *J. Nat. Can. Inst.*, 1940, 1:197.
—— and Beard, J. W. *J. Infect. Dis.*, 1939, 65:306; 1940a, 66:245; 1940b, 67:5; 1941, 68:133.
Burnet, F. M. *The Use of the Developing Egg in Virus Research*, Med. Res. Council, His Majesty's Stationery Office, London, 1936a.
—— *Aus. J. Exper. Biol. & Med. Sci.*, 1936b, 14:247.
—— in Doerr, R., and Hallauer, C. *Handbuch der Virusforschung*, Erste Hälfte, Wien, Verlag von Julius Springer, 1938, p. 419.
—— *Med. J. Australia*, 1942, 1:673.
—— *Virus as Organism: Evolutionary and Ecological Aspects of Some Human Virus Diseases*, Harvard University Press, Cambridge, 1945.
—— *Lancet*, 1948, 254:7.
—— and Bull, D. R. *Aus. J. Exper. Biol. & Med. Sci.*, 1943, 21:55.
—— and Ferry, J. D. *Brit. J. Exper. Path.*, 1934, 15:56.
——, Keogh, E. V., and Lush, D. *Aus. J. Exper. Biol. & Med. Sci.*, 1937, 15:227.
—— and Lush, D. *Aus. J. Exper. Biol.*, 1936, 14:27.
—— and Williams, S. W. *Med. J. Australia*, 1939, 1:637.
Buschke, A., and Lowenstein, L. *Klin. Woch.*, 1925, 2:1726.
Cowdry, E. V. *J. Exper. M.*, 1922, 36:667.
—— *Arch. Pathol.*, 1934, 18:527.
—— and Kitchen, S. F. *Am. J. Hyg.*, 1930, 11:227.

Craigie, J. *Brit. J. Exper. Path.*, 1932, 13:259.
——— in Doerr, R., and Hallauer, C. *Handbuch der Virusforschung*, Zweite Hälfte, Wien, Verlag von Julius Springer, 1939, p. 1106.
——— and Wishart, F. O. *Brit. J. Exper. Path.*, 1934, 15:390.
——— *J. Exper. M.*, 1936a, 64:803; 1936b, 64:819; 1936c, 64:831.
Creech, G. T. *J. Agr. Res.*, 1929, 39:723.
Cunha, R., Weil, M. L., Beard, D., Taylor, A. R., Sharp, D. G., and Beard, J. W. *J. Immunol.*, 1947 55:69.
Dalldorf, G., and Douglass, M. *J. Immunol.*, 1939, 37:245.
Da Rocha-Lima, H. *Arch. Schiffs- u. Tropenhyg.*, 1912, 16: Beiheft 1, 192.
Delbrück, M. *J. Gen. Physiol.*, 1940, 23:643.
——— *Adv. Enzymol.*, 1942, 2:1.
——— The Harvey Lectures, 1945-46, 41:161.
——— *Biolog. Rev.*, 1946, 21:30.
——— and Luria, S. E. *Arch. Biochem.*, 1942, 1:111.
DeMonbreun, W. A., and Goodpasture, E. W. *Am. J. Pathol.*, 1932, 8:43.
d'Herelle, F. *Compt. rend. Acad. d. sc.*, 1917, 165:373.
Dienes, L. *J. Bacteriol.*, 1945, 50:446.
Dingle, J. H. *New England J. Med.*, 1947, 237:845.
Dodd, K., Johnston, L. M., and Buddingh, G. J. *J. Pediat.*, 1938, 12:95.
Doerr, R., and Hallauer, C. *Handbuch der Virusforschung*, Erste Hälfte, 1938; Zweite Hälfte, 1939, Wien, Verlag von Julius Springer.
Elford, W. J. *Proc. Roy. Soc. London B.*, 1933, 112:384.
——— in Doerr, R., and Hallauer, C. *Handbuch der Virusforschung*, Erste Hälfte, Wien, Verlag von Julius Springer, 1938, p. 126.
Elford, W. J., and Ferry, J. D. *Brit. J. Exper. Path.*, 1935, 16:1.
Ellis, E. L., and Delbrück, M. *J. Gen. Physiol.*, 1939, 22:365.
Félix, A. *Brit. Med. J.*, 1943, 1:435.
Feller, A. E., Enders, J. J., and Weller, T. H. *J. Exper. M.*, 1940, 72:367.
Findlay, G. M. in *A System of Bacteriology*, Published by His Majesty's Stationery Office, London, 1930, 7: p. 252.
——— in Doerr, R., and Hallauer, C. *Handbuch der Virusforschung*, Erste Hälfte, Wien, Verlag von Julius Springer, 1938, p. 292.
——— in Doerr, R., and Hallauer, C. *Handbuch der Virusforschung*, Zweite Hälfte, Wien, Verlag von Julius Springer, 1939, p. 861.
——— and MacCallum, F. O. *J. Path. & Bacteriol.*, 1937, 44:405.
Finkelstein, H., Marx, W., Beard, D., and Beard, J. W. *J. Infect. Dis.*, 1940, 66:117.
Fox, J. P., and Laemmert, H. W., Jr. *Am. J. Hyg.*, 1947, 46:21.
Francis, T., Jr. *Science*, 1940, 92:405.
——— The Harvey Lectures, 1941-42, 37:69.
——— *Bacteriol. Rev.*, 1947, 11:147.
Friedemann, U. *Bacteriol. Rev.*, 1947, 11:275.
Gard, S. *J. Exper. M.*, 1940, 72:69.
Gaughran, E. R. L. *Bact. Rev.*, 1947, 11:189.
Glaser, R. W. in Rivers, T. M. *Filtrable Viruses*, Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1928, p. 279.
Goodpasture, E. W. *Am. J. Path.*, 1925, 1:547.
——— The Harvey Lectures, 1929-30, 25:77.
——— Woodruff, A. M., and Buddingh, G. J. *Am. J. Path.*, 1932, 8:271.
——— and Woodruff, C. E. *Am. J. Path.*, 1931, 7:1.
Gortner, R. A. *Science*, 1938, 87:529.
Green, R. G. *Science*, 1935, 82:443.
Green, R. H., Anderson, T. F., and Smadel, J. E. *J. Exper. M.*, 1942, 75:651.
Groupé, V., Oskay, J., and Rake, G. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1946, 63:477.
Gulick, A. *Adv. Enzymol.*, 1944, 4:1.
Habel, K. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1945, 60:201.
Hamre, D., and Rake, G. *J. Infect. Dis.*, 1947, 81:175.
——— Rake, H., and Rake, G. *J. Exper. M.*, 1947, 86:1.
Henle, G., and Henle, W. *Am. J. Med. Sci.*, 1945a, 210:369.
———, Henle, W., and Harris, S. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1947, 64:290.
Henle, W., and Henle, G. *Am. J. Med. Sci.*, 1944a, 207:705, 1944b, 207:717; 1945b, 210:362.
———, Henle, G., and Rosenberg, E. B. *J. Exper. M.*, 1947, 86:423.
Hershey, A. D., and Bronfenbrenner, J. *J. Gen. Physiol.*, 1941, 24:703.
Hillier, J., and Vance, A. W. *Proc. Inst. Radio Engrs.*, 1941, 29:167.
Hirst, G. K. *Science*, 1941, 94:22.
——— *J. Exper. M.*, 1942, 75:49; 1947a, 86:357; 1947b, 86:367.
——— *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1945, 58:155.
Hoagland, C. L. *Ann. Rev. Biochem.*, 1943, 12:615.

——— SMADEL, J. E., and RIVERS, T. M. *J. Exper. M.*, 1940, 71:737.
———, WARD, S. M., SMADEL, J. E., and RIVERS, T. M. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1940a, 45:669.
——— *J. Exper. M.*, 1940b, 72:685; 1941a, 74:69; 1941b, 74:133; 1942, 76:163.
HOOK, A. E., BEARD, D., TAYLOR, A. R., SHARP, D. G., and BEARD, J. W. *J. Biol. Chem.*, 1946, 165:241.
HORGAN, E. S. *J. Hyg.*, 1938, 38:702.
HORSFALL, F. L. *J. Exper. M.*, 1939, 70:209.
HOSKINS, M. *Am. J. Trop. Med.*, 1935, 15:675.
HOYLE, L. *J. Hyg.*, 1945, 44:170.
HUDSON, C. B., and BEAUDETTE, F. R. *Science*, 1932, 76:34.
HURST, E. W. *J. Path. & Bacteriol.*, 1931, 34:331.
HUTYRA, F., MAREK, J., and MANNINGER, R. *Special Pathology and Therapeutics of the Diseases of Domestic Animals*, Alexander Eger, Chicago, 1938, 1.
IWANOWSKI, D. *Bull. Acad. Imp. Sci.* (St. Petersburg), 1892, n.s. 35:67.
JENNINGS, H. S. *Science*, 1936, 84:445.
JONES, H., RAKE, G., and STEARNS, B. *J. Infect. Dis.*, 1945, 76:55.
JUNGEBLUT, C. W., and SANDERS, M. *J. Exper. M.*, 1940, 72:407.
Keeping Livestock Healthy. U. S. Dept. of Agric., Yearbook of Agriculture, U. S. Gov. Printing Off., 1942.
KIDD, J. G. *J. Exper. M.*, 1938, 68:703.
———, BEARD, J. W., and ROUS, P. *J. Exper. M.*, 1936, 64:63.
KNIGHT, C. A. *J. Exper. M.*, 1944a, 79:285; 1944b, 79:487; 1944c, 80:83; 1946a, 83:11; 1946b, 83:281; 1947a, 85:99; 1947b, 86:125.
——— and STANLEY, W. M. *J. Exper. M.*, 1944, 79:291.
KOPROWSKI, H., JAMES, T. R., and COX, H. R. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1946, 63:178.
KUROTCHKIN, T. J., LIBBY, R. L., CAGNON, E., and COX, H. R. *J. Immunol.*, 1947, 55:283.
LAUFFER, M. A. Report of the New England Association of Chemistry Teachers, 1941.
——— *J. Biol. Chem.*, 1942, 143:99.
——— *Arch. Biochem.*, 1947, 13:145.
LEDINGHAM, J. C. G. *J. Path. & Bacteriol.*, 1931a, 34:122.
——— *Lancet*, 1931b, 221:525.
LEVENS, J. H., and ENDERS, J. F. *Science*, 1945, 102:117.
LIPSCHÜTZ, B. *Wien. Klin. Wchnschr.*, 1907, 20:253.
——— *Arch. Derm. Syph.*, 1921a, 136:428.
——— *Derm. Wschr.*, 1921b, 73:798.
LOWELL, F. C., and BUCKINGHAM, M. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1946, 62:228.
LURIA, S. E., and ANDERSON, T. F. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1942, 28:127.
——— and DELBRÜCK, M. *Arch. Biochem.*, 1942, 1:207.
——— and ANDERSON, T. F. *J. Bacteriol.*, 1943, 46:57.
MCCLELLAND, L., and HARE, R. *Canad. Publ. Health, J.*, 1941, 32:530.
MCFARLANE, A. S. *Trans. Faraday Soc.*, 1940, 36:257.
———, MACFARLANE, M. G., AMIES, C. R., and EAGLES, G. H. *Brit. J. Exper. Path.*, 1939, 20:485.
MCINTOSH, J., and SELBIE, F. R. *Brit. J. Exper. Path.*, 1940, 21:153.
MCKEE, C. M., RAKE, G., and SHAFFER, M. F. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1940, 44:410.
MCKINNEY, H. H. *Phytopath.*, 1926, 16:893.
MCLEAN, I. W., JR., BEARD, D., and BEARD, J. W. *J. Immunol.*, 1947, 56:109.
———, TAYLOR, A. R., SHARP, D. G., BEARD, J. W., FELLER, A. E., and DINGLE, J. H. *J. Immunol.*, 1944, 48:305.
———, BEARD, D., TAYLOR, A. R., SHARP, D. G., and BEARD, J. W. *J. Immunol.*, 1945, 51:65.
MALKIEL, S., and STANLEY, W. M. *J. Immunol.*, 1947, 57:31.
MARKHAM, R., SMITH, K. M., and LEA, D. *Parasitol.*, 1942, 34:315.
MARTON, L. *J. Bacteriol.*, 1941, 41:397.
MERRILL, M. H. *J. Immunol.*, 1936, 30:169.
MEYER, K. F., HARING, C. M., and HOWITT, B. *Science*, 1931, 74:227.
MILLER, G. L. *J. Exper. M.*, 1944, 80:507.
——— *J. Biol. Chem.*, 1947, 169:745.
———, LAUFFER, M. A., and STANLEY, W. M. *J. Exper. M.*, 1944, 80:549.
MIRSKY, A. E. *Adv. Enzymol.*, 1943, 3:1.
MUDD, S. *J.A.M.A.*, 1944, 126:632.
——— and ANDERSON, T. F. *J.A.M.A.*, 1944, 126:561.
NEURATH, H., COOPER, G. R., SHARP, D. G., TAYLOR, A. R., BEARD, D., and BEARD, J. W. *J. Biol. Chem.*, 1941, 140:293.
NORTHROP, J. H. *J. Gen. Physiol.*, 1926, 9:497; 1938, 21:335.
——— and KUNITZ, M. *J. Gen. Physiol.*, 1925, 7:729.
PARKER, R. C. *Methods of Tissue Culture*, Paul Hoeber, Inc., New York, 1938.
PARKER, R. F. *J. Exper. M.*, 1938, 67:725.
———, BRONSON, L. H., and GREEN, R. H. *J. Exper. M.*, 1941, 74:263.

——— and Rivers, T. M. *J. Exper. M.*, 1936a, 63:69; 1936b, 64:439.
——— and Smythe, C. V. *J. Exper. M.*, 1937, 65:109.
Perlowagara, A., and Lennette, E. H. *Am. J. Trop. Med.*, 1944, 24:235.
Pickels, E. G., and Smadel, J. E. *J. Exper. M.*, 1938, 68:583.
Price, W. C. *Quart. Rev. Biol.*, 1940, 15:338.
———, Williams, R. C., and Wyckoff, R. W. G. *Arch. Biochem.*, 1946, 9:175.
Rake, G. in Bergey's *Manual of Determinative Bacteriology*, Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1948, 6th ed.
——— *J. Bacteriol.*, 1947, 54:637.
——— and Jones, H. P. *J. Exper. M.*, 1942, 75:323.
———, Jones, H., and Nigg, C. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1942, 49:449.
———, Rake, H., Hamre, D., and Groupé, V. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1946, 63:489.
———, Schaffer, M. F., Grace, A. W., McKee, C. M., and Jones, H. P. *Am. J. Syph. Gon. & Ven. Dis.*, 1941, 25:687.
Reed, L. J., and Muench, H. *Am. J. Hyg.*, 1938, 27:493.
Reilly, H. C., Harris, D. A., and Waksman, S. A. *J. Bacteriol.*, 1947, 54:451.
Rice, C. E. *J. Immunol.*, 1947, 56:343.
Rickard, E. R., Horsfall, F. L., Jr., Hirst, G. K., and Lennette, E. H. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1941, 56:1819.
Rivers, T. M. *Filtrable Viruses*, Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1928.
——— *J. Exper. M.*, 1930, 51:965; 1931, 54:453.
——— *Physiol. Rev.*, 1932, 12:423.
——— The Harvey Lectures, 1933-34, 29:220.
——— *Bull. N. Y. Acad. Med.*, 1938, 14:383.
——— Lane Medical Lectures: *Viruses and Virus Diseases*, Stanford University Press, Stanford University, California, 1939.
——— *Science*, 1941a, 93:143.
——— *Problems and Trends in Virus Research*, University of Pennsylvania Press, Philadelphia, 1941b.
——— *Virus Diseases*, Cornell University Press, Ithaca, 1943.
——— 1948. (En prensa.)
——— and Schwentker, F. F. *J. Exper. M.*, 1934, 60:211.
——— and Tillett, W. S. *J. Exper. M.*, 1924, 40:281.
——— and Ward, S. M. *J. Exper. M.*, 1937, 66:1.
———, Ward, S. M., and Smadel, J. E. *J. Exper. M.*, 1939, 69:31.
Ross, A. F. *J. Biol. Chem.*, 1941, 138:741.
Rous, P. The Harvey Lectures, 1935-36, 74:115.
——— *The Messenger Lectures*, Cornell University Press, Ithaca, 1943, p. 147.
——— and Beard, J. W. *J. Exper. M.*, 1934a, 60:701; 1934b, 60:741; 1935, 62:523.
———, McMaster, P. D., and Hudack, S. S. *J. Exper. M.*, 1935, 61:657.
———, Murphy, J. B., and Tytler, W. H. *J.A.M.A.*, 1912, 58:1751.
Ruffilli, D. *Biochem. Z.*, 1933, 263:63.
Ruska, H. *Naturwissenschaften*, 1941, 29:367.
——— and Kausche, G. A. *Zentr. Bakt. Parasitenk*, Abt. I. Orig., 1943, 150:311.
Sabin, A. B., and Hurst, E. W. *Brit. J. Exper. Path.*, 1935, 16:133.
——— and Olitsky, P. K. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1938, 38:597.
Salk, J. E., Menke, W. J., Jr., and Francis, T., Jr. *Am. J. Hyg.*, 1945, 42:57.
Sawyer, W. A., and Whitman, L. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1935-36, 29:397.
Schlesinger, M. *Biochem. Z.*, 1934, 273:306.
——— *Nature*, 1936, 138:508.
Sharp, D. G., Hook, A. E., Taylor, A. R., Beard, D., and Beard, J. W. *J. Biol. Chem.*, 1946a, 165:259.
———, Taylor, A. R., Beard, D., and Beard, J. W. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1942a, 50:205.
——— *J. Biol. Chem.*, 1942b, 142:193; 1944b, 156:585; 1945, 159:29.
——— *Arch. Pathol.*, 1943, 36:167.
———, Taylor, A. R., and Beard, J. W. *J. Biol. Chem.*, 1946b, 163:289.
———, Hook, A. E., and Beard, J. W. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1946c, 61:259.
———, Taylor, A. R., McLean, I. W., Jr., Beard, D., and Beard, J. W. *Science*, 1944a, 100:151.
———, Taylor, A. R., McLean, I. W., Jr., Beard, D., Beard, J. W., Feller, A. E., and Dingle, J. H. *J. Immunol.*, 1944c, 48:129.
Shedlovsky, T., and Smadel, J. E. *J. Exper. M.*, 1940, 72:511.
Shope, R. E. *J. Exper. M.*, 1931, 54:373; 1932a, 56:793; 1932b, 56:803; 1933, 58:607.
——— The Harvey Lectures, 1935-36, 31:183.
Smadel, J. E., and Hoagland, C. L. *Bacteriol. Rev.*, 1942, 6:79.
———, Pickels, E. G., and Shedlovsky, T. *J. Exper. M.*, 1938, 68:607.
——— and Rivers, T. M. *J. Exper. M.*, 1940, 72:523.
———, Rivers, T. M., and Pickels, E. G. *J. Exper. M.*, 1939, 70:379.
Smith, H. H., Penna, H. A., and Paoliello, A. *Am. J. Trop. Med.*, 1938, 18:437.

SMITH, W., ANDREWES, C. H., and LAIDLAW, P. P. *Lancet*, 1933, 2:66.
SPRUNT, D. H. *J. Exper. M.*, 1942, 75:297.
———, MARX, W., and BEARD, J. W. *J. Infect. Dis.*, 1940, 66:53.
STANLEY, W. W. *Science*, 1935, 81:644.
——— in Doerr, R., and Hallauer, C. *Handbuch der Virusforschung*, Erste Hälfte. Wien, Verlag von Julius Springer, 1938, p. 447.
——— *Physiol. Rev.*, 1939a, 19:524.
——— *J. Biol. Chem.*, 1939b, 129:405.
——— *J. Am. Chem. Soc.*, 1942, 64:1804.
——— *J. Exper. M.*, 1945, 81:193.
——— and ANDERSON, T. F. *J. Biol. Chem.*, 1941, 139:325.
———, KNIGHT, C. A., and DE MERRE, L. J. *Actualités médico-chirurgicales*, 1945, 6:1.
STOCK, C. C., and FRANCIS, T., JR. *J. Immunol.*, 1943, 47:303.
SVEDBERG, T., and NICHOLS, J. B. *J. Am. Chem. Soc.*, 1923, 45:2910.
——— and PEDERSEN, K. O. *The Ultracentrifuge*, The Clarendon Press, Oxford, 1940.
SYVERTON, J. T., and BERRY, G. P. *J. Exper. M.*, 1947a, 86:131; 1947b, 86:145.
TAYLOR, A. R. *J. Biol. Chem.*, 1944, 153:675; 1946, 165:271.
———, BEARD, D., SHARP, D. G., and BEARD, J. W. *J. Infect. Dis.*, 1942, 71:110.
———, SHARP, D. G., BEARD, D., and BEARD, J. W. *J. Infect. Dis.*, 1943a, 72:31.
———, SHARP, D. G., BEARD, D., BEARD, J. W., DINGLE, J. H., and FELLER, A. E. *J. Immunol.* 1943b, 47:261.
———, SHARP, D. G., BEARD, D., FINKELSTEIN, H., and BEARD, J. W. *J. Infect. Dis.*, 1941, 69:224.
———, SHARP, D. G., MCLEAN, I. W., JR., BEARD, D., and BEARD, J. W. *J. Immunol.*, 1945, 50:291.
———, SHARP, D. G., MCLEAN, I. W., JR., BEARD, D., BEARD, J. W., DINGLE, H. H., and FELLER, A. E. *J. Immunol.*, 1944, 48:361.
TENBROECK, C. in Beard, J. W., Beard, D., and Finkelstein, H. *J. Immunol.*, 1940, 38:117.
——— and MERRILL, M. H. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1933, 31:217.
TISELIUS, A. *Trans. Faraday Soc.*, 1937, 33:524.
TODD, C. *Brit. J. Exper. Path.*, 1927, 8:369.
Topley and Wilson's *Principles of Bacteriology and Immunity*, The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1946, 3d ed.
TRAUB, E. *J. Exper. M.*, 1936, 63:533.
TWORT, F. W. *Lancet*, 1915, 2:1241.
UMBREIT, W. W. *Bacteriol. Rev.*, 1947, 11:157.
VAN ROOYEN, C. E. *J. Path. & Bacteriol.*, 1938, 46:425.
——— and RHODES, A. J. *Virus Diseases of Man*, Thomas Nelson & Sons, New York, 1948.
Virus and Rickettsial Diseases, Harvard University Press, Cambridge, 1940.
VON PROWAZEK, S. *Arb. ksl. Gesundheitsamt*, Berlin, 1905, 22:535.
WEBSTER, L. T., and CLOW, A. D. *J. Exper. M.*, 1936a, 63:433; 1936b, 63:827.
WEIL, M. L., and BEARD, D. 1948, Trabajo para ser publicado.
WILLIAMS, R. C., and WYCKOFF, R. W. G. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1945, 58:265.
WOODRUFF, A. M., and GOODPASTURE, E. G. *Am. J. Path.*, 1931, 7:209.
WOODRUFF, C. E., and GOODPASTURE, E. G. *Am. J. Path.*, 1929, 5:1, 1930, 6:713.
WOODRUFF, H. B., NUNHEIMER, T. D., and LEE, S. B. *J. Bacteriol.*, 1947, 54:535.
WYCKOFF, R. W. G. *J. Gen. Physiol.*, 1938, 21:367.
——— *Science*, 1945, 101:129; 1946a, 104:21.
——— *Nature*, 1946b, 157:764.
——— *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1947, 66:42.
——— and COREY, R. B. *Science*, 1936, 84:513.
——— and LAGSDIN, J. B. *Rev. Sci. Instruments*, 1937a, 8:74; 1937b, 8:427.
ZIEGLER, J. E., JR., and HORSFALL, F. L., JR. *J. Exper. M.*, 1944, 79:361.
———, LAVIN, G. I., and HORSFALL, F. L., JR. *J. Exper. M.*, 1944, 79:379.
ZWORYKIN, V. K., and HILLIER, J. *Electron Optics and the Electron Microscope*, John Wiley and Sons, New York, 1945.

CAPITULO LIV

VIROSIS DEL HOMBRE CARACTERIZADAS POR LESIONES CUTANEAS

VIRUELA, VACUNA Y ALASTRIM

La viruela es una de las enfermedades infecciosas más virulentas, que se transmite directamente de hombre a hombre. Fué conocida muchos siglos antes de Cristo, especialmente en China y otros países de Oriente; arrasó repetidamente la Europa medieval con graves epidemias, especialmente durante la época de las Cruzadas. La enfermedad todavía es endémica en muchos países poco civilizados, particularmente en Oriente, y se presenta esporádicamente en muchos lugares del globo. Las tropas americanas en Corea y Japón, y las británicas en el Medio Este, a pesar de estar vacunadas, tuvieron muchos muertos de viruela (Bulletin, 1946; Illingworth y Oliver, 1944). En los países civilizados, donde se mantienen buenas condiciones sanitarias, todavía existen focos de viruela en aquellas zonas donde no hay leyes de vacunación, o se aplican mal. En Estados Unidos, en 1921, se registraron 103 000 casos; desde entonces, el número de casos anuales ha disminuído; en 1942 se diagnosticaron menos de 1 000 casos. Afortunadamente la enfermedad en Estados Unidos es leve y raras veces mortal. Existen, como es sabido, dos formas distintas de la enfermedad: una que tiene mortalidad hasta el 30 por ciento, y otra, menos grave, con mortalidad menor de uno por ciento. Estas dos formas pueden coexistir en una misma región (Topley y Wilson, 1946).

Todas las razas humanas son susceptibles; ninguna edad, desde la niñez hasta la senectud, pone al abrigo de la infección. Afortunadamente, el conocimiento de los medios de defensa contra el mal se encuentra muy avanzado. Hace siglos se conoce que un ataque de viruela protege contra la reinfección. Este conocimiento fué aplicado por los médicos antiguos de China y la India, quienes durante las epidemias benignas exponían los niños sanos a la infección con la esperanza de que sufrieran un ataque ligero y quedaran inmunes. Aunque peligrosa en extremo, tal *variolización* no carecía de valor, y así fué introducida en Europa en el siglo dieciocho por Lady Mary Wortley Montagu.

Dicha práctica, sin embargo, se hizo innecesaria, después de las investigaciones clásicas de Jenner, publicadas en 1798. Siendo estudiante A. Jenner había quedado muy impresionado por el hecho de que los campesinos que habían contraído una enfermedad conocida como pústula del ganado, por lo general eran inmunes a la viruela. Sus estudios y observaciones tuvieron resultado práctico en 1796, cuando inoculó al niño James Phipps con pus de una lesión pustulosa de la mano de un ordeñador infectado. Dos meses más tarde, el mismo niño fué nuevamente inoculado con material de una pústula de viruela sin adquirir la enfermedad. Este experimento estableció los principios de la vacunación que actualmente todavía se usa.

Debido a las relaciones inmunológicas íntimas entre la viruela, la vacuna y el alastrim se estudiarán juntos. La mayor parte de los conocimientos relacionados

con este grupo de virus se ha obtenido estudiando el virus de la vacuna. Este suele considerarse una forma modificada de la viruela.

Morfología y tinción. Guarnieri, en 1892, fué el primero en llamar la atención sobre la presencia de corpúsculos característicos en el citoplasma de las células epiteliales en las lesiones de viruela y vacuna. Cuando se tiñen con eosina azul de metileno, los corpúúsculos de inclusión se observan como masas de color rosa azulado, que frecuentemente contienen gránulos basófilos. Si bien el término *corpúsculos de Guarnieri* debería quizá aplicarse tanto a los cuerpos de inclusión de la viruela como de la vacuna, la costumbre ha hecho que se use para designar solamente las formadas en las infecciones vacunales. Además de los corpúsculos intracitoplásmicos, en las células infectadas con virus de viruela se observan inclusiones intranucleares acidófilas, que no existen en las células infectadas con virus de vacuna.

Los gránulos que se encuentran en los corpúsculos de Guarnieri, fueron descritos por Paschen (1906), y estos *gránulos de Paschen* o *corpúsculos elementales* se sabe ahora que son en realidad partículas de virus vacunal. Pickels y Smadel (1938), usando la técnica de sedimentación, estimaron que los corpúsculos elementales tenían 236 a 252 mμ de diámetro. El virus vacunal se filtra con dificultad cuando se hacen las emulsiones de las lesiones en solución salina, pero pasa fácilmente a través de bujías V de Berkefeld cuando se hacen las emulsiones en caldo hormonal de pH 7,6 (Ward, 1929).

Cultivo. El virus de la vacuna se ha cultivado en cultivos de tejidos y en medios que contienen células vivas (Steinhardt y Lambert, 1914; Parker, 1924; Graciun y Oppenheimer, 1926). Los mejores resultados fueron obtenidos por Maitland y Laing (1930) y Rivers y Ward (1935) quienes cultivaron el virus en medios que contenían embrión de pollo desmenuzado, suero y solución de Locke. El cultivo de virus, libre de bacterias, produjo lesiones de vacuna típicas en conejos y en el hombre; puede usarse para profilaxis jenneriana. El virus se ha cultivado sobre la membrana corioalantoidea del embrión de pollo (Goodpasture, 1933; Buddingh, 1937).

Resistencia. El virus de la vacuna se destruye entre 55° y 60° C., en 30 minutos. El virus desecado conserva poder infectante durante un año, pero con disminución de la virulencia; puede conservarse en glicerina al 40 por ciento durante seis meses (Noguchi, 1918). También puede conservarse vivo durante meses, congelado, o liofilizado (Sawyer y col., 1929). El virus de la vacuna muere rápidamente con fenol al 2 por ciento, pero puede vivir en fenol al 1 o menos por ciento si se conserva en la nevera (Noguchi, 1918).

Estructura antigénica. Desde el punto de vista práctico, la relación antigénica más importante es la que existe entre el virus de la viruela y el de la vacuna, ya que este último puede emplearse para producir inmunidad activa contra virus virulento de viruela. El virus vacunal se ha sujetado a análisis antigénico usando métodos semejantes a los aplicados en los estudios sobre constitución antigénica de bacterias. El virus de la vacuna, a pesar de ser pequeño, es uno de los mayores entre los conocidos; los corpúsculos elementales, al igual que las bacterias, pueden estudiarse por técnicas de aglutinación y absorción de aglutininas. Se ha descrito un antígeno termolábil "L" y uno termoestable "S", aun cuando estudios recientes indican que ambos antígenos son parte de la misma molécula (Smadel y col., 1943). También se ha estudiado una núcleoproteína NP antigénica y un antígeno X (Smadel y col., 1942).

Infección espontánea en animales. Hay numerosas enfermedades pustulosas en los animales que producen lesiones parecidas a las de la viruela y vacuna, pero

que no se han estudiado en detalle. Se ha pensado que la viruela espontánea o *casual* del ganado tenía su origen en la viruela. Las lesiones se presentan principalmente en las ubres de las vacas lecheras y, por lo tanto, resultan adecuadas para permitir la transferencia del virus a otras vacas por las manos del ordeñador. El término *viruela espontánea* de las vacas se usa solamente cuando no cabe determinar su origen; se ha notado que la enfermedad es menos común a medida que declina la frecuencia de la viruela en el hombre (Rosenau, 1935).

Infección experimental en los animales de laboratorio. Los monos y el hombre son los únicos huéspedes en los cuales el virus de la viruela se mantiene sin cambiar. Cuando se cultiva en huevos de gallina embrionados, puede conservarse el virus indefinidamente, pero se produce cierta alteración del poder antigénico (Heath, 1947).

Cuando se inocula virus de viruela a conejos o terneras, cambia sus características; el virus de vacuna usado para inmunizar contra la viruela suele prepararse en terneras inoculadas con virus de *conejo-ternera-hombre*.

El conejo se usa frecuentemente para pruebas de diagnóstico de viruela en el hombre y para determinar la potencia del virus vacunal para inmunización humana. La *prueba de Paul* se lleva a cabo escarificando la córnea de un conejo e inoculando la zona escarificada con material obtenido de la lesión sospechosa. Aproximadamente en el 50 por ciento de los casos de viruela se obtiene una prueba positiva, que consiste en la aparición de queratitis y una pequeña pápula umbilicada, y la demostración de corpúsculos de inclusión por examen histológico.

También pueden inyectarse intradérmicamente los conejos con el material de lesiones sospechosas de viruela; la prueba positiva consiste en el desarrollo de una lesión papular, costrosa o vesicular, que aparece alrededor de los cuatro días. Debe usarse como testigo un conejo previamente vacunado. Por supuesto, esta prueba se distingue entre viruela, alastrim o vacuna, pero como la última enfermedad no se produce espontáneamente, los antecedentes del enfermo deben excluir el diagnóstico de vacuna. El aislamiento primario del virus de la viruela en la membrana corioalantoidea constituye un método excelente de identificación específica. Las lesiones pustulosas son características; la especificidad puede comprobarse, además, impidiendo que aparezcan con antisuero específico. Van Rooyen e Illingworth (1944) han logrado diagnosticar la viruela demostrando los corpúsculos elementales en frotes de las lesiones coloreados con Giemsa. También son útiles las pruebas de precipitación usando suero de conejo inmunizado y los líquidos residuales de los extractos salinos de tejidos desmenuzados, centrifugados suavemente, así como de fijación de complemento usando suero del paciente y un antígeno varioloso conocido.

Tipos clínicos de la infección en el hombre. La *viruela* se presenta en dos formas. La viruela virulenta, *viruela mayor* o *viruela maligna*, es enfermedad extremadamente grave, de gran mortalidad; en la viruela leve, *viruela minor* o *alastrim*, la mortalidad es baja. Después de un período de incubación de 7 a 18 días, la enfermedad comienza con temperatura alta y escalofríos, cefalia, dolor en la espalda y dolores agudos en músculos y articulaciones. Estos síntomas persisten durante todo el período prodrómico; el exantema característico de la viruela aparece alrededor del cuarto día de la enfermedad. Coincidiendo con la erupción, baja la temperatura.

La erupción suele aparecer primero en la cara, luego en las extremidades superiores, el tronco y, por último, en las extremidades inferiores. También son invadidas las palmas de las manos y las plantas de los pies. Las pápulas pronto se tornan vesiculares y umbilicadas; por el octavo día, estas lesiones suelen ser pustulosas y

posteriormente se recubren de costras y secan. Frecuentemente son invadidas las mucosas. Hay, si acaso, muy poca transmisión de anticuerpos a través de la placenta, como sucede en la varicela. Los fetos de madres no inmunes, pueden infectarse *in utero*.

Según el aspecto del exantema, la enfermedad se ha dividido en tres tipos clínicos: *discreta, confluente* y *hemorrágica*. El tipo hemorrágico se ha subdividido además en dos grupos: *púrpura variolosa* y *viruela hemorrágica pustulosa*.

La viruela difiere de la *varicela* en lo súbito del comienzo de la vesiculación y la uniformidad en la evolución de las lesiones.

El *alastrim* es una enfermedad muy parecida, pero no idéntica, a la viruela, que se presenta principalmente en el Brasil, las Indias Occidentales, Jamaica y otras partes del mundo. McCallum y Moody (1921) y Aragao (1911) registraron una epidemia en la que hubo 250 000 casos con una mortalidad de 0,5 a 2 por ciento. El alastrim se parece tanto a un ataque ligero de viruela, que McCallum y Moody (1921) sugirieron que la forma leve de viruela epidémica en distintas partes del Canadá y EE. UU. puede relacionarse más bien con el alastrim que con la viruela verdadera.

El alastrim es muy contagioso y, por lo tanto, asume fácilmente forma epidémica. Su relación íntima con la viruela es evidente por el hecho de que una de esas enfermedades protege contra la otra; la vacunación ordinaria parece que protege tanto contra el alastrim como contra la viruela. Sin embargo, esta protección no es absoluta y McCallum menciona dos casos, registrados por Deeks, de personas que después de haber pasado la viruela verdadera enfermaron de alastrim.

Vacuna. Es una enfermedad artificial producida con el propósito de inducir inmunidad contra la viruela. Después de efectuada la vacunación adecuadamente, la infección es local y de carácter benigno. La *vacuna generalizada* se presenta rara vez. Hemos observado un caso mortal, en un niño no inmunizado, por haberse frotado vigorosamente con una toalla rugosa previamente usada por su hermano mayor que había sido vacunado una semana antes. La mortalidad en la vacuna generalizada es casi la misma que en la viruela maligna (Ross, 1940).

La complicación conocida como encefalitis postvacunal, se estudia en el capítulo de encefalitis. Ninguna muerte se atribuyó a encefalitis postvacunal en Nueva York, donde se practicaron 6 000 000 de vacunaciones (Heath, 1947).

La vacunación en un individuo no puede ser eficaz a menos que el virus sea potente y la inoculación se efectúe apropiadamente. Ambos factores son tan importantes, que se describirán en detalle. Los métodos que han demostrado ser más apropiados en el Departamento de Sanidad Pública de EE. UU., fueron descritos por Force y Leake (1927).

Preparación del sitio para la vacunación. La piel de la porción superior del brazo, a nivel de la depresión formada por la inserción del deltoides, se limpia suave, pero cuidadosamente, con gasa o algodón estéril empapados en acetona; se dejan transcurrir unos cuantos segundos para que seque. Se prefiere la acetona al alcohol porque es un limpiador eficaz, más barato, se evapora más rápidamente y no está desnaturalizada con substancias que puedan alterar el éxito de la vacunación. También es satisfactorio el lavado ordinario con agua y jabón.

Métodos de vacunación. *I. Método de la multipresión.* Cada paquete de tubos capilares contiene una perita de goma perforada, con un diafragma en el interior del cuello, que se usa para expulsar el virus del capilar, sobre el sitio donde se va a practicar la vacunación.

La aguja, que debe ser nueva, afilada y estéril, se sostiene paralela a la piel con los dedos índice y medio de la mano derecha por encima y el pulgar por debajo; la aguja debe señalar hacia la izquierda del operador y en posición perpendicular al brazo, de manera que el dedo pulgar

del operador no toque la piel. Entonces se ejerce presión *firme* y *rápidamente* con la punta de la aguja sobre la piel a nivel de la gota unas treinta veces en cinco segundos (diez veces en la vacunación primaria). El área por vacunar *no debe ser mayor de unos tres milímetros* de diámetro. El movimiento rápido de la aguja contra la piel debe efectuarse estando perpendicular a ella, no en la dirección del eje longitudinal. La punta no penetra en la piel, pero en cada presión la elasticidad de ésta hace que la vacuna penetre hasta las capas profundas de la epidermis. Si la piel no se ha frotado indebidamente al limpiarla, y si la presión se ejerce perpendicularmente la piel no debe sangrar y toda señal de traumatismo debe desaparecer en menos de seis horas. Inmediatamente después de efectuar las presiones se seca el resto de vacuna con gasa estéril y se baja la manga. El método tiene una serie de ventajas: es fácil, no doloroso, rápido y no produce traumatismo.

2. *Método de incisión o abrasión lineal.* Se deposita la gota de vacuna sobre la piel, como se ha descrito para el método de multipresión. Se sujeta la parte inferior del brazo con la mano izquierda del vacunador, para estirar la piel en el sitio donde se depositó la vacuna. Se ejerce presión con la punta de la aguja estéril a través de la gota de vacuna y se traza sobre el brazo un rasguño muy ligero *que no exceda de unos tres milímetros* (Jenner). Se frota entonces la vacuna a lo largo de la incisión, cuando menos 15 segundos. La incisión debe penetrar la epidermis, pero no provocar la salida de sangre. La fricción a través de la incisión puede producir ligera exudación de suero tinto en sangre, pero esto no debe poder eliminar el virus vacunal.

Número de inoculaciones. Se admite usar inoculaciones múltiples en los siguientes casos:

1. En caso de exposición a la viruela.
2. En caso de no prender la vacunación previa.
3. En caso de que se dude de la potencia de la vacuna como consecuencia de posibles condiciones adversas en el transporte o almacenaje.
4. En caso de que el sujeto no puede regresar para revacunarse, en el supuesto que no prenda.

Cuando se usan inoculaciones múltiples, deben hacerse a una distancia mínima de 2,5 cm una de otra. Debe usarse para cada una un tubo capilar.

Precauciones. No debe exponerse el sitio vacunado a la luz directa del sol, hasta que seque. *Los vendajes son innecesarios: es perjudicial dejarlos sobre el brazo mucho tiempo.* Las vesículas pequeñas, producidas por cualquiera de los métodos indicados, son suficientemente resistentes y secan sin romperse, a menos que sufran maceración por excesivo calor y humedad mantenidos por un apósito inadecuado. Las vesículas y costras deben conservarse secas; es necesario también impedir la suciedad de las ropas, para lo cual se puede colocar en la ropa un fragmento de gasa estéril. Un *prendimiento* grave, que rara vez se presenta, obliga a veces a apósitos antisépticos durante unos días.

Todas las primeras vacunaciones deben observarse al final de 10 a 15 días; las *revacunaciones* entre el segundo y el cuarto, con el fin de poder determinar una posible reacción de inmunidad. *La vacunación debe considerarse lograda tan pronto como aparezca esta reacción de inmunidad y empiece a remitir,* siempre y cuando se haya usado una vacuna de bastante potencia. En la prueba de potencia, una vacuna fuerte debe dar más del 50 por ciento de reacciones vacunoides en un grupo de personas vacunadas más de 10 años antes.

Es preferible seguir el método de pequeñas inoculaciones, porque el diámetro de la lesión depende de la zona inoculada y la rapidez con que sana depende también del tamaño de la lesión

Los estudios de Wright han demostrado que la *inyección intracutánea* de 0,1 c.c. de virus ordinario glicerinado diluído con una parte de agua destilada permite que *prenda* cuando el método de escarificación ordinario no ha tenido éxito. Este autor vacunó de esta manera 227 soldados negros y obtuvo más del 70 por ciento de éxito, mientras sólo obtuvo poco más del 8 por ciento en la misma serie de casos en los que previamente se empleó el método de la incisión.

Force (1927), quien ha tenido gran experiencia con su método de vacunación intradérmica, cree que debe usarse este procedimiento en los casos en que el método cutáneo no ha prendido, ni dado una "reacción de inmunidad" acelerada. El virus vacunal cultivado en huevo de gallina se obtiene libre de contaminación bacteriana y sería una vacuna excelente, pero no ha encontrado acogida porque se sospecha que el virus se altera antigénicamente.

Reacciones que siguen a la vacunación. En la figura 165 se ilustran esquemáticamente los tipos de reacción que se presentan al vacunar. Los cuatro tipos de reacción que pueden presentarse son los siguientes:

1. Vacuna o reacción primaria. Se presenta en aquellos que nunca han sido vacunados previamente o cuya inmunidad por vacunación anterior o por viruela ha desaparecido completamente. La pápula aparece del tercero al quinto día; la película alcanza su mayor desarrollo del octavo al décimo día, o más tarde.

2. Reacción vacunoide o acelerada. Se observa en aquellos que conservan inmunidad parcial por un ataque previo de viruela o por vacunación. Las pápulas aparecen del tercero al cuarto día, con formación de vesícula al quinto. Frecuentemente hay formación de pústula. El máximo de reacción se presenta en el sexto o séptimo día, después del cual desaparece rápidamente.

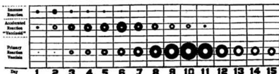


Fig. 165. Tipos de reacción consecutivos a la vacuna.
(Reproducido de *Health News*, 1925, 2:165, New York State Department of Health.)

3. Reacción de inmunidad o reacción inmediata. Se presenta en las personas que poseen grado alto de inmunidad. Aparece una pápula dentro de las cuarenta y ocho horas, que desaparece sin formar vesícula.

4. Si no ocurre ninguna de las reacciones antedichas o se presenta retrasada la formación de una pequeña pápula, después del tercer día, sin desarrollo mayor, ello constituye una reacción negativa y debe revacunarse al paciente.

Los pacientes con primovacunaciones presentan frecuentemente ligera inflamación y endurecimiento de los ganglios linfáticos regionales; en algunos casos, reacciones febriles ligeras.

Transmisión. Probablemente la viruela y el alastrim se transmiten por gotas a nivel del aparato respiratorio. El virus se halla en las lesiones y costras de las pústulas secas y posiblemente el virus seco se puede dispersar por el aire. También son posibles las infecciones de la piel por contacto directo con lesiones, pero la enfermedad que sigue a este tipo de inoculación suele ser localizada y leve. En efecto, tales materiales fueron los usados para la vacunación muchos años antes que Jenner introdujera la inmunización con virus vacuno.

Productos biológicos. Prácticamente todas las vacunas contra la viruela se producen en terneras, preferentemente de seis meses a dos años de edad. Los animales deben estar sanos y antes de utilizarlos se someten a pruebas de tuberculina y brucelina.

Las terneras pueden vacunarse con el material tomado de animales previamente vacunados, o pueden inocularse con *virus semilla* obtenido de vesículas de vacuna humana. El método en que se usa virus humanizado para inocular terneras con el fin de producir vacuna es el preferido por la mayoría de los investigadores y se designa como *retrovacunación*. Actualmente la virulencia del virus vacunal se mantiene por pasos a través de conejos.

Se hacen unas cien pequeñas escarificaciones en una zona de la piel del abdomen, rasurada y limpia, de las terneras, de preferencia por rasguños cruzados que abarcan de 3 a 4 cm cuadrados. Se frota el virus en estas zonas, se dejan secar y se pueden cubrir con gasa estéril. En algunos institutos no se cubren las lesiones.

Por lo general, dentro de las 24 horas aparece una estrecha aréola rosada alrededor de las escarificaciones. A las 48 horas, éstas se elevan ligeramente y se hacen papulares; por lo general, entre el cuarto y el sexto día se han producido vesículas vacunales típicas.

Para obtener vacuna de estas lesiones se limpia todo el campo de operación; si hay costras se separan cuidadosamente y todo el contenido de cada vesícula, incluyendo el suero viscoso y el exudado pulposo, se recoge en un solo paso de la cucharilla. La masa recogida se deposita en vasos o tubos estériles, se mezcla con partes iguales de glicerina y rápidamente se congela. Esta pulpa glicerinada se deja almacenada durante tres o cuatro semanas con el fin de que mueran las bacterias que invariablemente contiene. Si los recuentos bacterianos son bajos y no se presentan clostridios patógenos, se tritura cuidadosamente la pulpa glicerinada con un mortero o mediante aparatos de trituración adecuados. La pulpa así tratada debe mantenerse activa cuando menos tres meses si se conserva de manera adecuada en tubos cerrados y colocados en lugar frío.

Se puede probar la eficiencia del virus por inoculación a conejos con una serie de diluciones: Empezando con una mezcla que contiene cantidades iguales de glicerina y de pulpa vacunal, se preparan diluciones con agua esterilizada de 1:10 a 1:100. Se rasura la piel del dorso de los conejos y se frota cada una de las zonas rasuradas con 1 c.c. de una dilución. Los virus potentes deben producir vesículas muy cercanas entre sí, en dilución de 1:500, y numerosas vesículas aisladas en dilución de 1:1 000. El virus vacunal de reserva debe almacenarse en frío, entre 0° y 5° C.

Tratamiento. En la viruela grave, la muerte se produce por intoxicación profunda, bronconeumonía o complicaciones sépticas. La terapéutica específica se limita a estas dos últimas complicaciones. Se ha recomendado el uso profiláctico apropiado de antibióticos y agentes quimioterápicos. En cualquier otro caso el tratamiento es de sostén.

Prevención. Los beneficios de la vacunación son indudables y la oposición a ella sólo se explica por ignorancia. Los datos estadísticos sobre este punto son muchos. Seleccionamos de la literatura, tan abundante, un solo ejemplo, o sea, la estadística de muertes por viruela en Suecia durante los períodos anteriores y los siguientes a la introducción de la vacuna. En este país, la primera vacunación se hizo en 1801, y en 1810 su práctica se generalizó, pero no era obligatoria. En 1816 se hizo obligatoria, así que los años de 1774 a 1855 pueden dividirse en tres períodos:

Período	Muertes de viruela por millón de habitantes	Porcentaje de muertes por millón
1. Prevacunal, 1774-1801 (25 años)	2 050	20,00
2. Transitorio, 1801-1810 (9 años)	680	....
3. Vacunación obligatoria, 1810-1855 (35 años) ...	169	0,17

Al considerar los beneficios de la vacunación no debe olvidarse que la revacunación es tan importante como la primovacunación; ésta confiere inmunidad solamente para cinco a diez años. Por lo tanto, debe vacunarse al niño inmediatamente después de nacer o, cuando menos, antes del quinto mes, y la vacunación debe repetirse cada siete años aproximadamente.

Si se ha efectuado la vacunación en el niño antes de la introducción de alimentos sólidos en su dieta, es menos probable el peligro de vacuna generalizada. Mucken-

fuss (1947) publicó 36 casos de vacuna generalizada que ocurrieron con motivo de la vacunación reciente en Nueva York, donde fueron vacunadas más de 6 millones de personas. Veintidós de estos casos se presentaron en individuos que no habían sido vacunados antes. Creemos que la vacunación sólo está contraindicada en los pacientes que presentan heridas abiertas antes de las intervenciones quirúrgicas o en los primeros meses del embarazo.

La vacunación contra la viruela es una de las pocas medidas sanitarias para las cuales está justificada la obligatoriedad. El incumplimiento de las leyes existentes, siempre ha ido seguido por brotes de la enfermedad. Estamos seguros que la vacunación es indispensable para eliminar este azote de la humanidad, una de las más terribles aflicciones de los hombres durante la Edad Media y muchos años después.

SARAMPION

El sarampión es, quizá, la más infecciosa de todas las enfermedades humanas específicas. Gentes de todas las razas y de todas las edades se infectan fácilmente por exposiciones casuales. En muchos países civilizados, el sarampión es una enfermedad de la niñez como consecuencia, principalmente, de que la mayoría de los adultos son inmunes por ataques del mal sufridos durante la niñez. Esta enfermedad es más grave en los adultos que en los niños; durante los inviernos de los años 1916 y 1917 ocurrieron grandes epidemias en campamentos militares entre los reclutas jóvenes provenientes de medio rural. La mortalidad por neumonías estreptocócicas secundarias que siguieron al sarampión, fué tan alta como la de las epidemias de influenza que se presentaron al año siguiente.

Cuando el sarampión apareció por primera vez entre las poblaciones aborígenes, lo hizo con una violencia hasta entonces desconocida en las naciones más civilizadas, donde había sido endémico durante siglos (Rosenau, 1935). Tal fué la gran epidemia de las islas Fiji, en 1874, y las que ocurrieron en las Islas del Pacífico y entre los indios americanos (Panum, 1940; Gafafer, 1935).

El primer intento conocido para reproducir la enfermedad en un hombre fué el de Home, en Edimburgo, en 1759. Se tomó sangre del brazo de enfermos de sarampión, y con ella se empaparon algodones que se colocaron sobre heridas hechas en los brazos de individuos normales: se produjo un sarampión poco grave o de tipo modificado. Al principio se aceptaron los resultados de Home, pero más tarde fueron puestos en tela de juicio por muchos investigadores. En 1905, Hektoen logró producir la enfermedad en dos estudiantes de Medicina por inyección subcutánea de sangre tomada de pacientes con sarampión en el cuarto día de la enfermedad. Los experimentos de Hektoen se vigilaron cuidadosamente y sus resultados nunca han sido puestos en duda. Incidentalmente, Hektoen demostró que el virus del sarampión sobrevivía cuando menos 24 horas, cuando se mezclaba con caldo-ascitis. Anderson y Goldberger, en 1911, transmitieron el sarampión a los monos; este resultado fué confirmado satisfactoriamente por Blake y Trask en 1921. Se inocularon por vía intratraqueal *Macacus rhesus* con líquidos de lavado filtrados, o sin filtrar, de pacientes en los primeros estadios eruptivos; el examen histológico de las lesiones que se desarrollaron en la piel y mucosas bucales durante el curso de la infección demostró que eran casi idénticas a las observadas en el sarampión humano. La infección se transmitió de mono a mono y pudo demostrarse que un ataque experimental de sarampión confería inmunidad a este animal.

Morfología. Generalmente se admite que el virus del sarampión no forma cuerpos de inclusión, pero Broadhurst y colaboradores (1937-1938) señalaron la pre-

sencia de estos corpúsculos de inclusión en las células epiteliales de la nasofaringe y en cultivos de tejidos. No se conoce el tamaño del virus, excepto su filtrabilidad a través de discos Seitz EK (Rake y Shaffer, 1940).

Cultivo. Rake y Shaffer (1940) cultivaron el virus del sarampión en huevos fértiles inoculados con sangre y líquidos de lavado nasofaríngeo de pacientes en los primeros períodos de la enfermedad. Al parecer, el virus se multiplicó en la membrana corioalantoidea del pollo, pero no produjo lesiones características. Los monos inoculados con el virus cultivado presentaron uno o más signos característicos del sarampión humano, principalmente fiebre, coriza, leucopenia, enantemas y exantemas. Stokes y colaboradores (1943) lograron transmitir la enfermedad a niños por inoculación del material del décimosexto paso en serie en huevos. El material de los últimos pasos en huevo no produjo la enfermedad tan regularmente como los primeros.

Resistencia. La infección del virus del sarampión contenido en las secreciones nasales se pierde por calentamiento durante 15 minutos a 55° C., si bien resiste la desecación y congelación durante largo tiempo. El virus cultivado resiste el tratamiento con éter y retiene su infecciosidad después de almacenado a la temperatura del hielo seco.

Infección experimental en animales de laboratorio. Los monos son los únicos animales susceptibles a la infección con virus del sarampión.

Tipos clínicos de infección en el hombre. El sarampión es una enfermedad generalizada, si bien sus principales manifestaciones se observan en las mucosas y en la piel. La infección se adquiere por inhalación de gotas que contienen el virus, o de virus seco que flota en partículas de polvo. El *período de incubación* es de 10 a 14 días. Los síntomas iniciales son indistinguibles de los del catarro ordinario. Hay congestión y enrojecimiento de las mucosas de la porción superior del aparato respiratorio; frecuentemente la conjuntiva está enrojecida y hay exudación serosa transparente de las mucosas. La temperatura, que al principio es baja, aumenta día por día y frecuentemente alcanza 40° C. o 40,5° C., antes que aparezca el exantema. Generalmente aparecen en la mucosa de la faringe lesiones características llamadas *manchas de Koplik*, varios días antes que se manifieste el exantema. El paciente que es muy contagioso desde uno a cuatro días antes de comenzar el período catarral de la enfermedad hasta que la temperatura ha vuelto a la normal, debe aislarse durante siete días cuando menos después de aparecer la erupción. En ocasiones los pacientes manifiestan encefalitis pre o postsarampionosa o encéfalomeningitis (Arena, 1946). Afortunadamente, esta complicación es rara; tiene tendencia a dejar lesión permanente del tejido cerebral.

En los casos no complicados la muerte es rara, pero el virus del sarampión, como el de la influenza, produce alteraciones en las mucosas y tejido pulmonar, lo que los hace particularmente susceptibles a la invasión por cocos grampositivos y por *Hemophilus influenzae*.

Transmisión. El hombre es tan extraordinariamente susceptible para el virus del sarampión, que muy pocas personas, si acaso, escapan después de estar expuestos a él. La enfermedad se transmite principalmente en el estadio catarral primario, cuando el paciente todavía no guarda cama. La enfermedad también puede difundir por secreciones mediante juguetes, alimentos u otros objetos que los niños llevan a la boca.

Productos biológicos. Se han usado para inmunización profiláctica pasiva suero normal y de convaleciente. Como consecuencia del alto grado de inmunidad de la población adulta, pueden usarse para impedir o modificar la enfermedad sangre

total o placenta humana, que constituyen fuentes excelentes de anticuerpos protectores (McKhann, 1937). Se usa mucho para modificar y prevenir el sarampión globulina gamma obtenida de plasmas humanos mezclados por el método de fraccionamiento de Cohn y sus colaboradores (1944).

Tratamiento. No hay tratamiento específico para el sarampión. El paciente debe guardar cama y quedar sujeto a observación cuidadosa, con el fin de poder descubrir los primeros signos de infección secundaria. Quizá tenga interés administrar a los niños pequeños y a los delicados sulfamídicos como profilácticos contra las infecciones bacterianas. La bronconeumonía, complicación posible de la enfermedad, suele responder a la quimioterapia.

Prevención y profilaxis específica. La prevención del sarampión en comunidades o grupos muy numerosos es excesivamente difícil. En las escuelas, comunidades industriales y unidades militares, los procedimientos más importantes son los de inspección constante y segregación temprana de los individuos que presentan síntomas catarrales.

Puede prevenirse el sarampión si se administran anticuerpos en cantidad suficiente, dentro de los cuatro a cinco días que siguen a la exposición. En 1918, Nicolle y Conseil demostraron que el suero humano de convalecientes de sarampión podía proteger a los niños contra la infección. Casi todos los adultos son inmunes y tienen anticuerpos protectores en su sangre; es posible obtener inmunización pasiva de los niños y otros individuos susceptibles por inyección intramuscular de sangre total obtenida de los padres u otros adultos. Si entre los tres y los seis días que siguen a la exposición se inyecta sangre total, suero de convaleciente, extractos placentarios o globulinas gamma, se logra modificar o prevenir la enfermedad. Si el paciente sufre un ataque ligero del sarampión, puede ir seguido de inmunidad activa que, sin embargo, no siempre es permanente. En cuanto a la seroterapia, parece más importante, dentro de ciertos límites, la dosificación que el tiempo de inyección; de aquí, que los resultados en general no se puedan predecir; el paciente tendrá un sarampión no modificado, sarampión retardado, un proceso modificado con inmunidad persistente, o logrará sin más protección completa.

RUBEOLA

Sarampión alemán

Esta enfermedad, relativamente benigna y común de la niñez, ha llamado mucho la atención recientemente, como consecuencia de la aparición de defectos congénitos en los niños de madres que la sufrieron durante el primer trimestre del embarazo (Swan y col., 1943, 1946; Clayton-Jones, 1947). Numerosos casos de encefalitis complicaron las epidemias que se presentaron en el Ejército de EE. UU. durante la segunda Guerra Mundial.

Hiro y Tasaka (1938) transmitieron la infección a niños, por inyección subcutánea de líquidos filtrados de lavado nasal, obtenidos durante el período prodrómico y Habel (1942) reprodujo la enfermedad en los monos por inyección de sangre obtenida de pacientes que se hallaban en fase de estado de la enfermedad. El período de incubación en el hombre es de 14 a 21 días; la enfermedad produce inmunidad permanente. Las madres inmunes transfieren anticuerpos y el niño queda protegido durante cuatro a seis meses. La infección se caracteriza por síntomas generales ligeros, erupción de tipo sarampionoso y aumento del tamaño de los ganglios retroauriculares. Por lo general, no es necesario llevar a cabo ningún tratamiento, pero puede

prevenirse completamente la enfermedad y modificarse por inyecciones intramusculares de pequeñas cantidades de suero o plasma mezclado de adultos dentro de los siete días que siguen a la exposición.

VARICELA

Es una de las enfermedades humanas más contagiosas, caracterizada por erupción vesicular de la piel. Se ha demostrado que es inoculable en el hombre por Kling y otros (1913) quienes intentaron la vacunación profiláctica.

La infección específica puede ser producida en el hombre inoculando líquido de las vesículas; más tarde se encuentran inclusiones intranucleares en las células afectadas. Estos cuerpos intranucleares eosinófilos fueron descritos por primera vez por Tyzzer (1905); son parecidos a los que se observan en el herpes y en las infecciones con virus III; los corpúsculos elementales son de forma cocoide.

Es difícil infectar los animales con el virus. Rivers (1927) inoculó material de lesiones humanas y logró producir cuerpos de inclusión intranucleares acidófilos característicos en testículos de monos. No se cultiva el virus en huevos embrionados.

El *período de incubación* es de 14 a 16 días, rara vez de 21; ligeramente mayor, por lo tanto, que en la viruela. Es dudosa la inmunidad transplacentaria, puesto que la mayor parte de los niños son susceptibles al nacer y hay casos de varicela congénita (Oppenheimer, 1944). Con pocas excepciones, un ataque de la enfermedad va seguido de *inmunidad* duradera. La varicela es fácilmente transmisible durante los períodos prodrómico y agudo. Los brotes esporádicos son la regla, pero generalmente se presentan epidemias cada dos a cuatro años. Esta *enfermedad* está caracterizada por síntomas generales leves, por un período prodrómico corto y por la aparición sucesiva de vesículas en piel y mucosas (Wesselhoeft, 1944). La gravedad de la infección está en relación con el número de lesiones. La complicación más frecuente es la infección secundaria con *M. aureus* o estreptococo hemolítico. Sin embargo, puede presentarse una nefritis glomerular aguda y puede aparecer más tarde una encefalitis. Generalmente el tratamiento es paliativo. Se ha aconsejado el suero de convaleciente, pero su valor es dudoso (Gordon y Meader, 1929). Según Funkhauser (1948) la seroglobulina inmune (humana) modifica la enfermedad.

Mucho se ha escrito acerca de las relaciones posibles entre herpes zoster y varicela (Rivers, 1929), desde que Von Bokay (1909) observó casos de herpes zoster después de exposición a la varicela. A partir de 1909 se han hecho muchos esfuerzos para resolver el problema, pero Rivers y Eldridge (1929) concluyeron que, a pesar de la producción ocasional de cuadros clínicamente idénticos, el agente etiológico del herpes zoster es claramente diferente del que produce la varicela. Es posible que las dos enfermedades sean causadas por diferentes cepas del mismo virus, pero las relaciones antigénicas permanecerán en la obscuridad hasta que se logre diferenciarlos de manera más precisa.

HERPES FEBRIL

Löwenstein y Grüter, en 1920, descubrieron que las vesículas herpéticas comunes (úlceras frías) del hombre, están causadas por un virus que puede demostrarse fácilmente inoculando córnea de conejo. Siguiendo la sugestión de Doerr, de que el virus del herpes puede ser idéntico al que causa la encefalitis letárgica, se ha estudiado extensamente y la literatura sobre el asunto es muy rica.

El virus del herpes simple se ha aislado del líquido cefalorraquídeo de personas normales y de cerebros de personas fallecidas por enfermedades sin relación alguna, así como de pacientes de encefalitis letárgica (van Rooyen y Rhodes, 1940; Comisión Matheson, 1939). Sin embargo, Smith y colaboradores (1941) y Armstrong (1943) han presentado pruebas convincentes de que el virus del herpes simple puede producir meningoencefalitis primaria en el hombre y desde entonces han aparecido numerosas publicaciones similares (Zarafonetis y col., 1944; Whitman y col., 1946). El virus del herpes es particularmente importante por la gran variedad de manifestaciones clínicas que puede producir en el hombre.

Morfología. En las células epiteliales infectadas, el cuerpo de inclusión intranuclear acidófilo, llamado por Lipschütz (1921), "*cuerpo alfa*" desplaza la cromatina nuclear, que se condensa sobre la membrana nuclear, proceso denominado *marginación* de la cromatina. El cuerpo de inclusión contiene las partículas del virus que miden alrededor de 125 mμ de diámetro. En el líquido vesicular puede teñirse el virus; se encuentra en forma de corpúsculos elementales (Taniguchi y col., 1934).

Cultivo. El virus puede crecer fácilmente en cultivos de tejidos, usando triturado estéril de testículo de conejo como material fresco añadido (Smith, 1931). Puede crecer también en membrana corioalantoidea de huevo embrionado de gallina, donde forma pústulas o *placas* (Burnet, 1936; Shaffer y Enders, 1939; Anderson, 1940).

Resistencia. El virus puede conservarse en glicerina neutra.

Estructura antigénica. Florman y Trader (1947) encontraron diferencias antigénicas cuando compararon cuatro cepas de virus de herpes simple. Burnet y colaboradores (1939) señalaron que había semejanzas antigénicas entre el virus de herpes, el virus B y el virus seudorrábico.

Infección experimental en animales de laboratorio. El virus puede inocularse a la córnea de un conejo y pasarse indefinidamente de conejo a conejo por inoculación corneal. Según la virulencia de la cepa, algunos de los animales mueren de cuatro a siete días después de la inoculación, con síntomas característicos como fiebre, salivación, rechinar de dientes, temblores y contracciones espásticas que generalmente alcanzan a los músculos del cuello y la espalda y originan opistótonos intermitente. En tales animales, se encuentra el virus en el cerebro y puede transmitirse en serie de cerebro a cerebro. El virus puede también inocularse en la piel del conejo, donde produce una erupción papulovesicular. Otros animales, como los cobayos, ratas blancas y ratones blancos, son también susceptibles, pero en menor grado que los conejos. Los perros, gatos y pájaros no son susceptibles; con los monos se han obtenido resultados contradictorios. La inoculación intracerebral de conejos con líquido vesicular de lesiones de herpes humano, produce una meningoencefalitis mortal. Los ratones inoculados cutánea o intravenosamente con una cepa neurotrópica también desarrollan encefalitis (Salvin y Berry, 1943).

Tipos clínicos de infección en el hombre. Las infecciones humanas con virus de herpes originan gran variedad de tipos clínicos. El *herpes simple* se presenta, por lo común, en la cara y alrededor de los labios. Frecuentemente acompaña a las infecciones graves, como neumonía, meningitis aguda y otras. *Herpes genital* y *herpes vulvovaginal* son términos usados para designar las infecciones herpéticas en las regiones genitales del hombre y la mujer. El *herpes traumático* puede presentarse en cualquier parte del cuerpo después de una raspadura de la piel. La *estomatitis herpética* es común en los niños; en ellos se ha denominado *estomatitis aftosa* o *estomatitis ulcerosa* (Dodd, Johnston y Buddingh, 1938). La infección del ojo puede producir *conjuntivitis herpética* y *queratoconjuntivitis herpética*, esta última muy semejante a la

queratoconjuntivitis epidémica, producida por un virus totalmente diferente (véase "Queratoconjuntivitis epidémica"). El *eczema herpético (erupción variceliforme de Kaposi)* es clínicamente indistinguible de la vacuna generalizada (Ruchman y col., 1947); las dos entidades sólo pueden separarse por estudios adecuados de laboratorio. La *meningoencefalitis por herpes* es una encefalitis "aséptica" frecuentemente mortal (Zarafonetis y col., 1943; Whitman y col., 1946; McCormick, 1947). Cualquiera de las entidades clínicas citadas puede resultar de una infección primaria con virus herpético; las infecciones más graves pueden acompañarse de fiebre alta y otros síntomas tóxicos. Son comunes los ataques recurrentes de infección con herpes, de ordinario sin manifestaciones generales. Después del ataque primario y durante los demás pueden demostrarse en los pacientes anticuerpos neutralizantes y fijadores de complemento. El suero del 60 al 90 por ciento de los individuos normales posee anticuerpos neutralizantes. Las infecciones por herpes son singulares por cuanto el anticuerpo no proporciona protección (Scott y Steigman, 1941). Es posible que las recurrencias indiquen un estado de hipersensibilidad para el virus. Se ha encontrado una prueba cutánea positiva para virus de herpes en personas que sufren herpes recurrente (Nagler, 1944).

Generalmente los individuos con herpes recurrente son alérgicos al virus vacunal y dan intensas reacciones induradas, eritematosas a las 24 ó 48 horas de la vacunación. De ordinario, la vacunación repetida con virus vacunal desensibiliza al paciente y previene recurrencias posteriores de herpes (Pepys, 1946).

Excepto la desensibilización, no existe tratamiento específico.

HERPES ZOSTER

Zona

Entre los diversos tipos de infecciones por virus que causan erupciones vesiculares de la piel, tres tienen interés especial: varicela, herpes zoster y herpes simple. El herpes zoster o *zona* es primariamente una infección de los ganglios de las raíces posteriores, pero se estudia en este capítulo por la preeminencia de las lesiones cutáneas. Probablemente hay numerosos irritantes que actúan sobre los ganglios posteriores produciendo erupciones vesiculares en las zonas de distribución cutánea de los nervios correspondientes, pero los estudios resumidos por Rivers (1926, 1927), indican que el herpes zoster está causado por un virus que difiere de los de la varicela y del herpes simple. Amies (1934) pudo teñir los cuerpos elementales del virus en las vesículas del zoster.

Goodpasture y Anderson (1944) cultivaron virus zoster sobre fragmentos de piel humana injertados en membrana corioalantoidea de embrión de pollo e informaron de la presencia de cuerpos de inclusión acidófilos en las células epiteliales afectadas.

Los virus de la varicela y del herpes zoster parecen estar relacionados, puesto que los anticuerpos fijadores de complemento producidos en respuesta a una y otra infección son idénticos (Netter y Urbain, 1931) y el suero de convalecientes de zoster contiene aglutininas para los cuerpos elementales de la varicela. Los virus del herpes zoster y de la varicela difieren del virus del herpes simple en que ninguno de los primeros produce lesión en la córnea del conejo.

El herpes zoster es más común en los adultos. Se caracteriza clínicamente por vesículas grandes en la piel, que por lo general se distribuyen en un solo lado a lo largo del trayecto de un nervio sensitivo. La infección suele ir acompañada de sensibilidad y dolor intenso y no es rara la *neuralgia postherpética*.

El tratamiento consiste en aliviar el dolor con sedantes y radioterapia y tomar medidas para impedir las infecciones secundarias por ruptura de las lesiones.

Generalmente un ataque de herpes zoster inmuniza al paciente contra otro, pero no contra los virus de la varicela y del herpes simple.

MOLUSCO CONTAGIOSO

Esta enfermedad contagiosa de la piel se observa con mayor frecuencia en los niños y jóvenes. Se presenta en forma esporádica epidémica. Se caracteriza por lesiones botonosas, ligeramente elevadas, por lo general algo umbilicadas, compuestas de masas radialmente ramificadas de células epiteliales, separadas por tabiques fibrosos. Durante muchos años, los dermatólogos consideraron estas lesiones como un neoplasma benigno. En 1905, Juliusberg logró inyectarse la infección a sí mismo y a sus ayudantes, triturando con arena una neoformación escindida y filtrando el extracto diluído por filtro de Chamberland. Después de un período de incubación de 50 días se desarrollaron neoformaciones típicas de molusco, que, en los cortes, se vió contenían pequeños corpúsculos de inclusión ovales, con el aspecto de los que Lipschütz había descrito como característicos de la enfermedad. Más tarde, Leber (1912) se ingenió para obtener, en cultivos hechos con suero sanguíneo humano, la proliferación de lo que él creía el virus filtrable. Hubo un aumento evidente en el número de cuerpos de Lipschütz de estos cultivos.

Las inclusiones celulares citoplásmicas o "corpúsculos del molusco" han sido estudiadas nuevamente por Goodpasture y Woodruff (1931); los encontraron muy semejantes en estructura y modo de crecimiento a los corpúsculos de Bollinger de la viruela de gallinas. El trabajo sugiere que los corpúsculos diminutos son partículas de virus y que los cuerpos de inclusión mayores son colonias o agregados de virus. Goodpasture y Woodruff (1931) han propuesto el nombre *Borreliota mollusci* para los corpúsculos específicos (corpúsculos de Lipschütz) del molusco contagioso. Los animales no son susceptibles a la infección experimental. La sulfadiacina es agente terapéutico útil (Schiff, 1947).

VERRUGAS

Las verrugas son excrecencias epidérmicas originadas como resultado de hiperplasia de la capa de Malpighio de la piel. Muchas verrugas que se producen en el hombre son producidas por virus filtrables. Una de las formas más comúnmente observada es la *verruga vulgaris*, dura, elevada, que aparece en manos y dedos. Las verrugas juveniles, *verruca plana seu juvenilis*, son las excrecencias pequeñas, ligeramente elevadas, que aparecen en cara, cuello, manos y pies. Son benignas y limitadas; pueden desaparecer repentinamente.

Un tipo que produce molestia considerable es la verruga venérea o *condiloma acuminado*. Esta forma aparece en la región genital, y además de la molestia producida por las excrecencias y los olores y secreciones desagradables, puede sufrir transformación maligna. Así, por ejemplo, el condiloma acuminado que aparece en el pene, puede adoptar la forma de una papilomatosis maligna, igual que un carcinoma destructor.

La literatura relacionada con virus causantes de verrugas ha sido revisada por Findlay (1930) y, más recientemente, por Blank (1948). Parece que en el hombre los diferentes tipos de verrugas son causados por el mismo virus y que, en cierto grado, la forma asumida por la neoformación depende de su localización en el cuer-

po. El período de incubación de la enfermedad varía entre unas cuatro semanas y cinco o seis meses.

El podofilino es agente terapéutico específico en el tratamiento del condiloma acuminado, pero no tiene acción sobre las verrugas de otra clase en el hombre.

BIBLIOGRAFIA

Viruela, vacuna y alastrim

ARAGAO. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz,* Río Janeiro, 1911, T. III, Facic, II, 309.
ARMSTRONG, C. *U. S. Pub. Health Rep.,* 1927, 42:3061.
BASTIAANSE, F. S. VAN B., THERBURGH, BYL, LEVADITI. *Bull. Acad. Med.,* 1925, 94:815.
BUDDINGH, G. J. *Am. J. Pub. Health,* 1937, 27:1135.
Bulletin U. S. Army Medical Dept., 1946, 5:616.
CALMETTE, A., and GUÉRIN, C. *Ann. de l'Inst. Pasteur,* 1901, 15:161.
CONYBEARE, E. T. *Practitioner,* 1946, 157:191.
CRACIUN, E. C., and OPPENHEIMER, E. H. *J. Exper. M.,* 1926, 43:815.
DOWNIE, A. W., and DUMBELL, K. R. *Lancet,* 1947, 1:550.
DUCOR, D. H. *U. S. Pub. Health Rep.,* 1947, 62:565.
FLEXNER, S. *J.A.M.A.,* 1930, 94:305.
FORCE, J. N., and LEAKE, J. P. *Bull. U. S. Hyg. Lab.,* 1927, No. 149.
FYFE, G. M., and FLEMMING, J. B. *Brit. Med. J.,* 1943, 2:671.
GOODPASTURE, E. W. *Science,* 1933, 77:119.
———, WOODRUFF, A. M., and BUDDINGH, G. J. *Am. J. Path.,* 1932, 8:271.
——— and WOODRUFF, C. E. *Am. J. Path.,* 1931, 7:1.
GUARNIERI, G. *Arch. per le Sci. med.,* 1892, 16:403.
GUERIN, C. *Ann. de l'Inst. Pasteur,* 1905, 19:317.
HEATH, F. K. Staff Clinic, *Am. J. Med.,* 1947, 3:355.
HORGAN, E. S. *J. Hyg.,* 1938, 38:702.
ILLINGWORTH, R. S., and OLIVER, W. A. *Lancet,* 1944, 2:681.
JENNER, E. *An Inquiry into the Causes and Effects of the Variolae Vaccine.* London, Sampson Low, 1798.
MCCALLUM, W. G., and MOODY, L. M. *Am. J. Hyg.,* 1921, 1:388.
MAITLAND, H. B., and LAING, A. W. *Brit. J. Exper. Path.,* 1930, 11:119.
MARSDEN, J. P. *Bull. Hyg.,* 1946, 21:555.
MUCKENFUSS, R. S. Presented before Am. Pub. Health Assn., Atlantic City, October 9, 1947.
NELSON, J. B. *J. Exper. M.,* 1939, 70:107.
NOGUCHI, H. *J. Exper. M.,* 1918, 27:425.
PARKER, F. *J. Med. Res.,* 1924, 44:645.
PASCHEN, E. *München. med. Wchnschr.,* 1906, 53:2391.
PICKELS, E. G., and SMADEL, J. E. *J. Exper. M.,* 1938, 68:583.
RIVERS, T. M., and WARD, S. M. *J. Exper. M.,* 1933, 58:635; 1935, 62:549.
ROSENAU, M. J. *Preventive Med. & Hyg.,* 6th ed., Appleton-Century, New York, 1935
ROSS, R. A. *Virus and Rickettsial Diseases,* Harvard Univ. Press, Cambridge, 1940, page 217.
SAWYER, W. A., LLOYD, W. D. M., and KITCHEN, S. F. *J. Exper. M.,* 1929, 50:1.
STEINHARDT, E., and LAMBERT, R. A. *J. Infect. Dis.,* 1914, 14:87.
SMADEL, J. E., RIVERS, T. M., and HOAGLAND, C. C. *Arch. Path.,* 1942, 34:275.
———, HOAGLAND, C. L., and SHEDLOVSKY, T. *J. Exper. M.,* 1943, 77:165.
TOPLEY, W. W. C., and WILSON, G. S. *Principles of Bacteriology and Immunity,* 3rd ed, Williams & Wilkins, Baltimore, 1946.
TURNBULL, H. M., and MCINTOSH, J. *Brit. J. Exper. Path.,* 1926, 7:181.
VAN ROOYEN, C. E., and ILLINGWORTH, R. S. *Brit. Med. J.,* 1944, 2:526.
WARD, H. K. *J. Exper. M.,* 1929, 50:31.
WILSON, R. E., and FORD, F. R. *Bull. Johns Hopkins Hosp.,* 1927, 40:377.
WRIGHT, L. T. *J.A.M.A.,* 1918, 71:654.

Sarampión

ANDERSON, J. F., and GOLDBERGER, J. *J.A.M.A.,* 1911, 57:1612.
ARENA, J. A. *Soc. Med. Jr.,* 1946, 39:513.
BLAKE, F. G., and TRASK, J. D. *J. Exper. M.,* 1921, 33:385.
BROADHURST, J., MACLEAN, M. E., and SAURINO, V. *J. Infect. Dis.,* 1937, 61:201.
———, CAMERON, G., and SAURINO, V. *J. Infect. Dis.,* 1938, 62:6.
COHN, E. J., ONCLEY, J. L., STRONG, L. E., HUGHES, W. L., and ARMSTRONG, S. H. *J. Clin. Invest.,* 1944, 23:417.

GAFAFER, W. M. *Isis*, 1935, 24:90.
HEKTOEN, L. *J. Infect. Dis.*, 1905, 2:238.
HOME, I. *Medical Facts and Experiments*, Edinburgh, 1759.
KOHN, J. L., KLEIN, I. F., and SCHWARZ, H. *J.A.M.A.*, 1938, 111:2361.
MARIS, E. P., RAKE, G., STOKES, J., JR., SHAFFER, M. F., and O'NEIL, G. C. *J. Pediat.*, 1943, 22:17.
MCKHANN, C. F. *J.A.M.A.*, 1937, 109:2034.
NICOLLE, C., and CONSEIL, E. *Bull. et mem. Soc. méd. hôp. de Paris*, 3 ser., 1918, 42:336.
PANUM, P. L. *Observations Made During the Epidemic of Measles on the Faroe Islands in 1846* (Translated Monograph), Delta Omega Society, 1940.
PLOTZ, H. *Bull. l'Acad. de Med.*, 1938, 119:598.
RAKE, G. *J. Pediat.*, 1943, 23:376.
——— and HODES, H. L. *Am. J. Dis. Child.*, 1942, 64:815.
——— and SHAFFER, M. F. *J. Immunol.*, 1940, 38:177.
ROSENAU, M. J. *Preventive Medicine & Hygiene*, 6th ed., D. Appleton-Century Co., New York, 1935, p. 79.
SHAFFER, M. F., RAKE, G., STOKES, J., JR., and O'NEIL, G. C. *J. Immunol.*, 1941, 41:241.
STOKES, J., JR., O'NEIL, G. C., SHAFFER, M. F., RAKE, G., and MARIS, E. P. *J. Pediat.*, 1943, 22:1.

Rubéola (sarampión alemán)

CLAYTON-JONES, C. *Lancet*, 1947, 1:56.
HABEL, K. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1942, 57:1126.
HIRO, Y., and TASAKA, S. 1938. Citado por Topley, W. W. C., and Wilson, G. S., *Principles of Bacteriology and Immunity*, Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1946.
SWAN, C., TOSTEVIN, A. L., MAYO, H., and BLACK, G. H. B. *Med. J. Australia*, 1943, 2:201; 1944, 1:409.
——— and BLACK, G. H. B. *Med. J. Australia*, 1946, 2:889.

Varicela

FUNKHAUSER, W. L. *J. Pediat.*, 1948, 32:257.
GORDON, J. E., and MEADER, F. M. *J.A.M.A.*, 1929, 93:2013.
KLING, C. A. *Berlin klin. Wchnschr.*, 1913, 50:2083.
OPPENHEIMER, E. H. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1944, 74:240.
RIVERS, T. M. *J. Exper. M.*, 1927, 45:961.
——— *Trans. Ass. Am. Phys.*, 1929, 44:165.
——— and ELDRIDGE, L. A., JR. *J. Exper. M.*, 1929, 49:899, 907.
TYZZER, E. E. *J. Med. Res.*, 1905, 14:361.
VON BOKAY, J. *Wein. klin. Wchnschr.*, 1909, 22:1323.
WESSELHOEFT, C. *New Eng. J. Med.*, 1944, 230:15.

Herpes febril

ANDERSON, K. *Am. J. Path.*, 1940, 16:137.
ARMSTRONG, C. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1943, 58:16.
BURNET, F. M. Spec. Rep. Ser. Med. Res. Comm., London, 1936, No. 220.
———, LUSH, D., and JACKSON, A. V. *Aust. J. Exper. Biol. & Med. Sci.*, 1939, 17:41.
DODD, K., JOHNSTON, L. M., and BUDDINGH, G. J. *J. Pediat.*, 1938, 12:95.
DOERR, R. *Centralbl. f. Haut. u. Geschlechtskrankh.*, 1924, 13:417; 1924, 15:1, 289; 1924, 16:20.
FLORMAN, A. L., and TRADER, F. W. *J. Immunol.*, 1947, 55:263.
GRÜTER. 1912-1914, citado por Lowenstein, *Klin. Monatsbl. Augenheilk*, 1920, 64:15.
LIPSCHÜTZ, B. *Arch. f. Derm. u. Syph.*, 1921, 136:428.
LOWENSTEIN, A. *Klin. Monatsbl. Augenheilk*, 1920, 64:15.
Matheson Commission on Epidemic Encephalitis, Columbia Univ. Press, New York, 1939, p. 11.
MCCORMICK, G. W. *J. Pediat.*, 1947, 30:473.
NAGLER, F. P. O. *J. Immunol.*, 1944, 48:213.
PEPYS, J. *Clin. Proc.*, Cape Town, 1946, 5:213.
RUCHMAN, I., WELSCH, A. L., and DODD, K. *J. Bacteriol.*, 1947, 53:503.
SALVIN, H. B., and BERRY, G. P. *J. Exper. M.*, 1943, 78:315, 321.
SCOTT, T. F. M., and STEIGMAN, A. J. *J.A.M.A.*, 1941, 117:999.
SHAFFER, M. F., and ENDERS, J. F. *J. Immunol.*, 1939, 37:383.
SMITH, W. *J. Path. & Bacteriol.*, 1931, 34:747.
SMITH, M. G., LENNETTE, E. H., and REAMES, H. R. *Am. J. Path.*, 1941, 17:55.
TANIGUCHI, T., HOSOKAWA, M., KUGA, S., and MASUDA, Z. *Jap. J. Exper. M.*, 1934, 12:101.
VAN ROOYEN, C. E., and RHODES, A. J. *Virus Diseases of Man*, Oxford Univ. Press, London, 1940, pp. 148 and 833.
WHITMAN, L., WALL, M. J., and WARREN, J. *J.A.M.A.*, 1946, 131:1408.
ZARAFONETIS, C. J. D., SMADEL, J. E., ADAMS, J. W., and HAYMAKER, W. *Am. J. Path.*, 1944, 20:429.

Herpes zoster

AMIES, C. R. *Brit. J. Exper. Path.*, 1934, 15:314.
GOODPASTURE, E. W., and ANDERSON, K. *Am. J. Path.*, 1944, 20:447.
NETTER, A., and URBAIN, A. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1931, 46:17.
RIVERS, T. M. *J. Exper. M.*, 1926, 43:275; 1927, 45:961.

Molusco contagioso

BENCEL, L. S. *Rhode Island Med. J.*, 1947, 30:806.
GOODPASTURE, E. W., and WOODRUFF, C. E. *Am. J. Path.*, 1931, 7:1.
JULIUSBERG, M. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1905, 31:1598.
LEBER, A. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt., 1912, 67:58.
LIPSCHÜTZ, B. *Wien. klin. Wchnschr.*, 1907, 20:253; 1927, 40:1101.
SCHIFF, B. L. *Rhode Island Med. J.*, 1947, 30:806.

Verrugas

BLANK, H. *Medicine*, 1948 (en prensa).
FINDLAY, G. M. in *A System of Bacteriology in Relation to Medicine*, Published by His Majesty's Stationery Office, London, 1930, 7:252-258.

CAPITULO LV

VIROSIS DEL HOMBRE CARACTERIZADAS POR SINTOMAS RESPIRATORIOS

INFLUENZA

La influenza, llamada a veces "la peste moderna", difiere de todas las otras grandes enfermedades epidémicas en que no se evita por las medidas preventivas ordinarias. Muchos recuerdan aún el terror de la última pandemia de 1918, cuando estaban forzados a contemplar, impotentes, cómo millones de sus semejantes eran atacados por una enfermedad que, en velocidad de propagación, era parecida al cólera o la peste.

Las pandemias empezaron frecuentemente en Asia y se extendieron a Europa y América, como ocurrió entre los años 1729 a 1733; 1781-1782; 1788; 1799-1803; 1830-1833; 1836; 1847; 1889 y 1918. Estas epidemias, que afectaron a todas las edades en ambos sexos, se caracterizaron por la aparición de una infección repentina masiva que difunde con velocidad tremenda por todo el globo, pero que se extingue rápidamente por sí misma en localidades particulares. Al principio, la morbilidad es grande y la mortalidad baja, pero al progresar la epidemia aumenta la mortalidad.

Durante la pandemia de 1889, Pfeiffer (1892) aisló el bacilo conocido ahora como *Hemophilus influenzae*, que se consideró como causante de la enfermedad, hasta que se estudió de nuevo la cuestión en la pandemia de 1918, cuando la mayoría de los investigadores llegaron a la conclusión de que la infección era causada por un virus y no por una bacteria específica. Sin embargo, en aquel tiempo las técnicas de estudio de los virus no estaban suficientemente desarrolladas para poder aislar el virus.

Desde 1918 no ha habido nueva aparición de la enfermedad en forma pandémica y los virus de la influenza aislados durante los últimos quince años han sido recogidos de epidemias pequeñas y localizadas, en las cuales la mortalidad ha sido nula. De hecho, la influenza sin complicaciones se considera como una enfermedad leve con poca o ninguna mortalidad; los investigadores creen que las grandes pandemias del pasado fueron originadas por la acción combinada del virus y una bacteria virulenta. Sin embargo, aunque esta hipótesis corresponda a la realidad, es probable que no pueda probarse hasta que aparezca otra pandemia y pueda hacerse un estudio de todos los factores que intervienen.

El virus de la influenza fué aislado en 1933 por Smith, Andrewes y Laidlaw, quienes infectaron hurones por vía nasal con filtrados de secreciones obtenidas de la nasofaringe de enfermos en las primeras etapas de la influenza. Sus observaciones fueron confirmadas por Francis (1935-38), quien aisló el virus en Puerto Rico, Filadelfia y Alaska; Francis usó hurones para los primeros aislamientos, seguidos de transferencia del virus al ratón. La cepa inglesa y la de Puerto Rico, cepa "PR8", se conoce ahora como virus de la influenza tipo A. Un segundo tipo de virus de la

influenza llamado cepa "Lee" fué aislado por Francis (1940) y por Magill (1940); como difiere inmunológicamente del virus de la influenza A, se llamó virus de la influenza B. En 1946-47 se aisló una nueva cepa de virus tipo A, designada como FM-1. No se han encontrado otros tipos de virus, a pesar de que los datos clínicos sugieren su existencia (Dingle, 1947).

Ocurren también espontáneamente epizootias de influenza en los cerdos; el virus de la influenza porcina fué aislado por Shope en 1931. Aunque relacionado inmunológicamente con el virus A de influenza humana, no está demostrado que el virus de la influenza porcina afecte al hombre (Shope, 1936; Bodily y Eaton, 1942; Hudson y col., 1943).

El descubrimiento de que el virus podía ser cultivado en embriones de pollo (Burnet, 1935), hizo posible la producción de cantidades relativamente grandes de virus para estudios experimentales y preparación de vacunas.

Morfología. Se ha demostrado con el microscopio electrónico que el virus de la influenza es un organismo redondeado o de forma arriñonada con un diámetro medio de 100 mμ (fig. 149). Su estructura sugiere que se trata de un cuerpo organizado circundado por una membrana limitante semipermeable (Sharp y col., 1945). Los virus de influenza A y B y el virus de la influenza porcina no pueden diferenciarse con el microscopio electrónico, pero medidas aproximadas han demostrado que el virus de la influenza tipo A tiene un diámetro medio de 101 mμ; el virus de la influenza B, 123 mμ y el virus de la influenza porcina 96.5 mμ (véase la tabla en la pág. 677).

Cultivo. Los virus de la influenza se desarrollan rápidamente en embriones de pollo y alcanzan máxima concentración en los líquidos alantoideo y amniótico. El embrión puede sobrevivir a la infección o muere. Hamburger y Habel (1947) han informado de un efecto teratógeno. Por ultracentrifugación se ha concentrado el virus en líquido corioalantoideo y se han estudiado las características químicas, físicas y biológicas de este virus en forma relativamente pura. Los resultados de estos estudios pueden encontrarse en las publicaciones de Beard y col. (1944), Friedewald y Pickels (1944), Stanley (1944) y Wyckoff (1945).

Resistencia. El virus vive durante largos períodos de tiempo cuando se conserva a —70° C. Cuando está suspendido en líquido corioalantoideo o extractos de tejido, resiste la congelación y la desecación. Se inactiva rápidamente por fenol al 5%, pero resiste la concentración de 0,1% durante un mes. Muere por el formol y otros muchos agentes (Dunham y MacNeal, 1944).

Metabolitos. Ciertas cepas del virus vivo de la influenza son tóxicas; se considera que esta actividad tóxica se destruye cuando el virus muere por calentamiento o por el formol (Henle y Henle, 1945). Sin embargo, cuando se inyectan con fines inmunológicos, la mayor parte de los virus de influenza producen reacciones tóxicas.

Constitución química y estructura antigénica. Los constituyente químicos de los diferentes virus de influenza se muestran en forma tabular (pág. 679). Los virus de influenza A y B y el virus de la influenza porcina, se diferencian fácilmente por pruebas de precipitación, fijación de complemento y protección. Parece, sin embargo, que hay considerable variación en la composición antigénica de las diferentes cepas de virus de influenza A. Las cepas aisladas de enfermos durante el fin del invierno y la primavera de 1946-47 difieren antigénicamente de las cepas clásicas PR8; los anticuerpos encontrados en el suero de estas cepas sólo reaccionan con las cepas homólogas aisladas recientemente (Francis y col., 1947; Smadel, 1947). Tal cambio en las características del virus A puede resultar de una mu-

tación; éste es sólo uno de los muchos problemas sin resolver relacionados con las virosis que han sido tratados competentemente por Burnet (1945, 1948).

Hirst (1942) y McClelland y Hare (1941) descubrieron que los eritrocitos de pollos eran aglutinados por líquido alantoideo que contuviera virus de influenza y que esta acción aglutinante podía inhibirse específicamente por los anticuerpos de los sueros inmunes. Este fenómeno, conocido como *reacción de Hirst*, es de gran valor práctico, puesto que constituye una prueba *in vitro* para la estimación cuantitativa tanto de los virus como de los anticuerpos (Hirst, 1942; Salk, 1944). Más recientemente, los eritrocitos humanos de tipo "O" han substituído a los eritrocitos de pollo en esta prueba (Whitman, 1947).

Infección experimental en animales de laboratorio. Cuando el virus humano es inoculado intranasalmente al hurón, el animal presenta fiebre y los cornetes nasales se hinchan y congestionan. Después de varios pasos en estos animales, las inoculaciones similares causan lesiones pulmonares. Los ratones blancos también son susceptibles a las inoculaciones intranasales del virus adaptado al hurón y ambos animales, después de un período febril ligero, presentan lesiones pulmonares que principian en el hilio y se extienden periféricamente. Estas lesiones, de consistencia firme y color rojizo, recuerdan lesiones bronconeumónicas observadas en el hombre. Una vez restablecidos los animales, su suero contiene anticuerpos neutralizantes y ya no son susceptibles a la reinfección.

Los conejos no son susceptibles a la infección experimental, pero la inyección del virus produce anticuerpos específicos capaces de proteger pasivamente al ratón y hurón contra la enfermedad.

Tipos clínicos de infección en el hombre. La influenza sin complicaciones es una enfermedad benigna, con pocos o ningún síntomas respiratorios. Tales casos, por lo general, se presentan al principio de la epidemia. Los primeros dos o trescientos casos vistos en los soldados norteamericanos en Francia, durante la epidemia de 1918, no presentaron síntomas respiratorios, tuvieran o no lesiones locales evidentes. La enfermedad fué tan breve e inofensiva que no se reconoció como influenza y se llamó "fiebre de tres días".

Si aparecen síntomas respiratorios, la enfermedad se confunde con una laringitis o bronquitis ligera que desaparece en tres o cuatro días. El comienzo de la influenza es característicamente abrupto, aunque a veces hay unos cuantos días de ligero malestar antes de aparecer los primeros síntomas. Los característicos de la influenza son: anorexia, fiebre, dolor de cabeza, acompañados algunas veces de congestión y ardor en los ojos y laringitis seca ligera. Los dolores en la espalda y en los músculos, particularmente en las pantorrillas, son a veces muy intensos. La temperatura se eleva rápidamente de 38,5° C. a 40° C., persiste por dos o tres días y gradualmente retorna a la normal, dejando al enfermo completamente exhausto. Pueden presentarse erupciones eritematosas en la piel. Generalmente hay neutropenia sin esplenomegalia.

El cuadro clínico es totalmente diferente si el virus se asocia con una infección secundaria o concomitante por cocos piógenos o *Hemophilus influenzae*. El principio es más grave y todos los síntomas más intensos; predominan los respiratorios. La resistencia del tejido pulmonar disminuye por acción del virus y las bacterias asociadas se multiplican no sólo en los alvéolos, sino también en los tejidos intersticiales produciendo un tipo de neumonía intersticial difuso. En contraste con el esputo herrumbroso clásico de un caso típico de neumonía lobar, frecuentemente consiste en coágulos y sangre casi pura. La expectoración hemática puede continuar durante tres a siete días. Los dolores pleurales suelen ser intensos; puede pro-

ducirse empiema 24 ó 48 horas después de la aparición de los primeros síntomas. En el acme de una epidemia frecuentemente ocurren muertes por infección secundaria dentro de las 48 a 72 horas de la aparición de los síntomas. A consecuencia de la acción debilitante del virus, la alteración del tejido pulmonar es más intensa que la producida por las bacterias piógenas ordinarias; el restablecimiento se retrasa y la convalecencia se prolonga.

En casos aislados o esporádicos no cabe establecer el diagnóstico solamente por los datos clínicos. Los anticuerpos neutralizantes aparecen en el suero al comienzo de la convalecencia y el diagnóstico serológico puede establecerse con una muestra de suero en el quinto día de la enfermedad y una segunda entre los catorce y los veinte días. Comparando la capacidad de las dos muestras de suero para neutralizar al virus o inhibir las aglutinaciones de los glóbulos rojos, no sólo puede establecerse la presencia o ausencia de influenza, sino que también resulta posible determinar el tipo de virus que infecta al enfermo.

La velocidad de dispersión de una epidemia depende de los medios y facilidades con que se trasladan los individuos infectados, ya que el virus no viaja más aprisa que sus huéspedes. Cuando aparecen simultáneamente gran número de casos en una zona localizada, ello se debe algunas veces a exposiciones masivas como consecuencia de aglomeraciones de tipo social, profesional u otro. Actualmente se sabe que infecciones esporádicas con virus de influenza A y B ocurren durante períodos no epidémicos. El diagnóstico en estos casos se ha comprobado por pruebas serológicas y por aislamiento del virus (Lennette y col., 1941; Stuart-Harris, 1945; Salk, 1944; Francis y col., 1946; Burnet y col., 1946).

Tratamiento. El virus de la influenza no es atacado por ningún agente terapéutico conocido. La administración de sulfonamidas o de penicilina al principio de los síntomas suele disminuir o eliminar el peligro de infecciones bacterianas secundarias. Burnet (1948) ha propuesto una terapéutica digna de consideración.

Prevención. Se han hecho muchos estudios en los últimos años con el fin de preparar vacunas apropiadas contra la influenza humana; pero poco se avanzó hasta que se descubrió que podían obtenerse concentraciones grandes de virus en el líquido corioalantoideo de embriones infectados. La concentración y la purificación parcial del virus se ha efectuado por algunos métodos, principalmente: 1) por adsorción y separación del virus de los glóbulos rojos de pollo (Hirst y col., 1942; Francis y Salk, 1942); 2) por sedimentación del virus en una supercentrífuga Sharples, (Taylor y col., 1945; Stanley, 1945), y 3) por adsorción del virus en fosfato de calcio (Salk, 1941, 1947). La vacuna se inactiva con formol.

Miembros de la Comisión de la Influenza han publicado en 1944 experimentos en gran escala hechos con vacunas adsorbidas y obtenidas de glóbulos rojos. Como la frecuencia de la influenza en 6 211 personas no vacunadas fué de 7,11% y en 6 263 personas vacunadas fué de 2,22% puede decirse que se redujo alrededor de un 70% en el grupo vacunado. Sin embargo, debe hacerse notar que fué necesario vacunar 100 individuos con el fin de disminuir la frecuencia de 7,11 a 2,22. En la epidemia de 1945-46 causada por virus de influenza B se obtuvieron resultados similares (Francis y col., 1946; Hirst y col., 1947), pero no se observaron diferencias netas entre grupos vacunados y grupos testigos en el brote de 1946-47 de la influenza A (Francis y col., 1947; Smadel, 1947; Sigel y col., 1947). La eficacia de las vacunas inactivadas de virus de influenza es todavía incierta, pues en condiciones naturales muchos adultos poseen en su suero anticuerpos neutralizantes como resultado de exposiciones repetidas al virus. Una resistencia natural a la enfermedad se demuestra por la frecuencia relativamente baja de enfermos en con-

diciones epidémicas y no ha habido oportunidad para probar las vacunas en las pandemias.

La vacunación produce incremento de anticuerpos circulantes, que alcanzan su máxima concentración en dos semanas o menos; el número de enfermos se relaciona estadísticamente con la concentración de anticuerpos. Sin embargo, algunos individuos con anticuerpos en sangre contraen la influenza, y es obvio que la resistencia guarda relación con otros factores aparte de los anticuerpos circulantes; tal es el tipo antigénico del virus o la inmunidad tisular local, como indican Burnet (1943, 1948) y Mawson y Swan (1943).

No se han hecho experiencias extensas con vacunas concentradas, pero parece que se ha adelantado algo con el uso de estos preparados. Una cantidad diez veces mayor de virus inactivado sólo duplica la concentración de anticuerpos producidos y las vacunas concentradas no sólo son más caras, sino que suelen producir reacciones. Varias dosis pequeñas de vacuna espaciadas en forma adecuada son probablemente más eficaces que una sola dosis elevada.

El estado de resistencia de una población en un momento dado depende probablemente de los contactos repetidos de los individuos con virus activo. Los experimentos con cerdos, huéspedes naturales del virus de la influenza porcina (MacLean y col., 1947) han demostrado la gran susceptibilidad que presentan los animales que nunca han tenido contacto con el virus. Inoculaciones intranasales experimentales de virus producen la enfermedad clínica en el 94,1% de los animales. Se obtuvo morbilidad del 59% en cerdos inoculados con virus de la influenza porcina, formolado y concentrado por centrifugación en el aparato de Sharples. En contraste, sólo se observó una morbilidad de 16,7% en los cerdos que habían tenido la enfermedad y fueron reinoculados con virus activo.

La inmunización activa contra la influenza se halla en etapa experimental.

RESFRIADO COMUN

El resfriado común, la más frecuente de las infecciones humanas, se transmite directamente de persona a persona. Tiene gran importancia por la pérdida económica que supone la infección masiva de una población.

La duración media de un resfriado es de cinco días y la mayoría de las personas sufren cuando menos dos catarros por año. En consecuencia, 40 a 50% de los días de trabajo perdido son atribuibles a los resfriados y sus complicaciones. Sólo en EE. UU. las pérdidas originadas por catarros se estiman en más de mil millones de dólares por año. La pérdida anual en salarios se estima en 420 millones y el costo de los medicamentos y cuidados médicos en unos 400 millones. Los costos resultantes de menor producción y labores interrumpidas no pueden calcularse (*Statistical Bull.*, 1947).

La inflamación catarral de la nariz, garganta y bronquios superiores, que siempre acompaña al resfriado, produce un medio ideal para el alojamiento y multiplicación de los bacilos de la influenza, neumococos, estreptococos diftéricos, meningococos y otros organismos patógenos. Además, el estornudo, la tos y la expectoración de los individuos que sufren resfriados producen la diseminación indistinta de gran número de bacterias que residen en sus vías respiratorias. Los portadores de organismos virulentos los distribuyen a otras personas junto con el virus mismo. No cabe duda que la gran frecuencia de las infecciones respiratorias durante los meses fríos del año resulta de la difusión de bacterias patógenas junto con el virus del catarro común.

El alto grado de infecciosidad del resfriado común y la ausencia de una flora bacteriana característica en la nasofaringe sugirieron a los primeros investigadores que el catarro común era una enfermedad por virus. Kruse, en 1914, y Foster, en 1917, transmitieron el resfriado común a voluntarios humanos, empleando filtrados de secreciones de la nasofaringe. El chimpancé, que es naturalmente susceptible al virus humano, ha sido infectado tanto con filtrados procedentes del hombre como con virus cultivados en embriones de pollo (Dochez y col., 1936, 1938; Long y col., 1931; Powell y Clowes, 1931; Pollard y Caplovitz, 1947).

El virus. Topping y Atlas publicaron en 1947 el aislamiento de un agente en el líquido alantoideo y las membranas de huevos de gallina embrionados inoculados con líquido de lavado nasal sembrado en leche descremada estéril tratada con penicilina y estreptomicina. En los voluntarios, el virus produjo síntomas y signos comparables a los de la infección respiratoria superior que presentaba el donador original. La naturaleza exacta de este agente no ha sido definida. Cuando se congela a —70° C. y se mantiene a —50° C., la infecciosidad del agente se conserva durante semanas. Las observaciones hechas por R. W. G. Wyckoff con el microscopio electrónico revelaron partículas que tenían el tamaño aproximado del virus de la influenza.

Con este agente no se logró producir la enfermedad en ratones, hámsteres, ratas, ratas americanas, cobayos ni conejos. Los glóbulos rojos de pollo no fueron aglutinados por los líquidos alantoideos activos y el suero de voluntarios no presentó aumento en el título de anticuerpos para la influenza A o B.

Tipos clínicos de infección en el hombre. El resfriado típico tiene período de incubación corto, de 24 a 48 horas, y principio repentino con congestión de la nasofaringe, estornudos y descarga acuosa abundante de las mucosas nasal y conjuntival. La temperatura se eleva ligeramente y el paciente se siente destemplado, pero no enfermo para encamarse. En consecuencia, la víctima de un resfriado suele hacer su vida normal, y como consecuencia disemina el virus a otros muchos individuos. Después de 24 a 48 horas cesa la secreción acuosa abundante y es reemplazada por otra viscosa, mucoide o mucupurulenta, llena de bacterias, generalmente del tipo de las que el individuo alberga antes de enfermar. Pueden presentarse, como secuelas del resfriado común, infecciones de los senos, otitis media, mastoiditis, bronquitis y en ocasiones neumonía.

La idea de que el resfriado resulta de mojaduras o bajas repentinas de temperaturas está firmemente admitida en la mente popular. Si tales cambios pueden reactivar una infección bacteriana latente de la nasofaringe y dar lugar a catarros esporádicos, los resfriados epidémicos no se desarrollan, a menos que el virus sea introducido en la comunidad. En las investigaciones de Paul y Freese (1933) sobre bacteriología y epidemiología de los resfriados en la comunidad ártica de Spitzenbergen, se observó que poco después del arribo del primer barco durante la primavera a aquellas latitudes, aparecía una epidemia de resfriado que afectó a casi toda la población.

El síndrome clínico de un *resfriado* puede ser producido por una infección bacteriana aguda de las vías respiratorias superiores o por la reactivación de una infección residual de la nasofaringe. Estos catarros no suelen producir mucha congestión de las mucosas y rara vez se transmiten a otros (Fabricant, 1946; Sargent y col., 1947).

Otros virus pueden producir *catarros*, y es imposible diferenciar por observación clínica, sin la ayuda del laboratorio, un resfriado intenso de una infección ligera con virus de influenza.

Transmisión. Es muy difícil impedir la diseminación del resfriado, aun con el aislamiento de los individuos infectados, ya que el paciente puede transmitir la infección horas antes de que aparezcan los síntomas clínicos de la enfermedad (Long y col., 1931). Los individuos resfriados deben evitar el contacto con los niños; los escolares enfermos deben mantenerse recluídos en casa durante los primeros días de la infección. Los resfriados son particularmente peligrosos como "agentes catalizantes" durante las epidemias de difteria, sarampión, poliomielitis, meningitis y neumonía epidémica.

Tratamiento. No hay tratamiento específico para los resfriados, pero el peligro de infección secundaria puede conjurarse con sulfonamidas o penicilina.

Prevención. La inmunidad adquirida para el virus del resfriado común es poca y de corta duración, o existen diversos tipos antigénicos de virus, ya que la mayoría de los individuos sufren dos o tres resfriados por virus al año. Actualmente no se conoce ningún método para producir inmunidad con el virus cultivado.

Los individuos que sufren catarros recurrentes no transmisibles, al menor enfriamiento o mojadura de los pies o baja repentina de la temperatura, pueden disminuir la frecuencia y duración de tales catarros con autovacunas o productos similares del comercio. Pero tales vacunas no ofrecen protección contra los resfriados por virus.

NEUMONIA ATIPICA PRIMARIA

En 1938, Bock y, más tarde, Murray (1940), describieron una neumonitis aguda casi idéntica a la enfermedad infecciosa aguda del aparato respiratorio, que en 1942 el Departamento de Guerra de Estados Unidos designó como "neumonía atípica primaria". En 1944 la Comisión de Enfermedades Respiratorias se encargó de estudiar esta infección.

Esta comisión logró transmitir la enfermedad a voluntarios humanos, empleando filtrados de secreciones del aparato respiratorio, pero no consiguió aislar o identificar el agente infeccioso (Enders, 1947, *Report of Comission on Acute Respiratory Diseases*, 1945a, 1945b).

La transmisión probablemente tiene lugar por contacto directo, ya que no hay pruebas de que el agua, la leche, los alimentos, los utensilios de cocina o insectos vectores jueguen ningún papel en la diseminación de la enfermedad. La proporción de atacados es baja y el período de transmisibilidad se desconoce, pero la frecuencia de la enfermedad es paralela en cierto grado con la prevalencia estacional de otras infecciones de las vías respiratorias altas. La enfermedad se diagnostica por el cuadro clínico y radiológico, completado por la prueba del laboratorio de las aglutininas en frío (Peterson y col., 1943) o la prueba de aglutinación empleando *Streptococcus* M. G. indiferente.

No hay tratamiento específico para la neumonía atípica primaria. *

FIEBRE PAPPATACI
Fiebre de tres días

Esta enfermedad se observó originalmente en los países que bordean el Mediterráneo, pero desde entonces se ha descrito en otras muchas partes del mundo, especialmente en lugares de clima cálido donde las epidemias aparecen en verano. A pesar

* La aureomicina se está empleando con éxito en el tratamiento de esta afección. (N. del T.)

de conocerse el proceso desde hace muchos años, sólo recientemente se reconoció como entidad nosológica distinta, ya que lo repentino de su aparición y su rápida defervescencia hicieron que se confundiera con otras enfermedades. Esta fué estudiada cuidadosamente por una Comisión Austríaca (Doerr, Franz y Taussig, 1909).

El *período de incubación*, determinado por inoculación intradérmica del virus, es de 2,5 a 6 días (Sabin y Paul, 1944). La enfermedad se caracteriza por fiebre de más de 40° C., que dura de dos a tres días, y se acompaña de dolores musculares y síntomas generales. En casos más graves pueden presentarse vómitos y trastornos gastrointestinales intensos.

El virus se puede demostrar en la sangre un día antes y dos días después de la aparición de la fiebre. La curación va seguida de inmunidad que dura por lo menos cuatro meses.

En 1908 Doerr transmitió la enfermedad mediante la picadura del insecto *Phlebotomus pappataci*. Se permitió que las moscas picaran a pacientes durante las primeras 24 horas de fiebre. Una vez infectados los insectos se les dejó picar a individuos normales no inmunes; Doerr demostró que la transmisión de la enfermedad sólo era posible después de que la sangre infectada había permanecido en el cuerpo de la mosca por lo menos cuatro o cinco días, hecho que demostró que la simple transmisión del virus no era suficiente para causar la infección.

DENGUE

Fiebre rompe-huesos, fiebre solar

El dengue es enfermedad que aparece en los trópicos y subtrópicos. Su importancia se puede estimar por la experiencia habida en la población militar de Espíritu Santo, en 1943, cuando se calculó que el 25% del personal cayó enfermo con esta infección, lo que produjo una pérdida de 80 000 días de trabajo (Downs y colaboradores, 1947).

El conocimiento preciso concerniente a la etiología, modo de transmisión y otros factores relacionados con el dengue se obtuvo principalmente de los experimentos efectuados por oficiales médicos del Ejército de los Estados Unidos, como Craig, Ashburn, Siler, Hall, Hitchens, Simmons y sus colaboradores. También merecen honor muchos hombres que voluntariamente se sometieron a la experimentación. Los resultados de tales investigaciones han sido publicadas en dos grandes monografías.

La naturaleza filtrable del virus fué demostrada por Ashburn y Craig, en 1907, y Shortt, Rao y Swaminath (1936) informaron del cultivo del virus en huevo embrionado. Los monos parecen ser los únicos animales susceptibles. No se han demostrado inclusiones celulares características, no se ha observado el virus ni se ha cultivado en medios inertes. Inmunológicamente parece ser distinto del de la fiebre pappataci (Sabin y col., 1944).

Después de un período de incubación de cuatro a ocho días los pacientes se sienten repentinamente enfermos con congestión de las conjuntivas, dolores en los globos oculares, dolores agudísimos característicos en las extremidades y fiebre elevada. Otros síntomas son dolor de cabeza intenso, anorexia, insomnio y depresión mental. Comúnmente, la garganta está dolorosa y puede haber infarto de los ganglios cervicales. Es tan frecuente la aparición de un exantema que algunos autores clasifican la enfermedad entre las exantemáticas. El número de leucocitos es bajo, frecuentemente menos de 4 000 por mm^3. En los casos típicos se presenta una especie de crisis con baja de temperatura y bradicardia de poca duración, seguida de un segundo ataque.

El dengue deja inmunidad; es raro un segundo ataque, aun durante período epidémico.

El virus es *transmitido* por los mosquitos *Aëdes aegypti* (Siler, Hall y Hitchens, 1925) y *Aëdes albopictus*. Los mosquitos deben alimentarse de sangre durante los tres primeros días de la enfermedad y no transmiten la infección hasta que han transcurrido once o más días. Probablemente son infectantes durante toda su vida, pero no hay transmisión hereditaria. *Culex fatigans* y *Culex quinquefasciatus* (Clelland, Bradley y McDonald, 1916; Graham, 1903), que en un principio se creyeron vectores, en realidad sólo pueden transmitir el virus mecánicamente. No hay *tratamiento* específico para la enfermedad.

Los métodos de *prevención* van dirigidos contra el mosquito vector e incluyen el uso de mosquiteros, repelentes y DDT.

FIEBRE DEL VALLE DEL RIFT

Esta enfermedad, que afecta principalmente ovejas, bovinos y caprinos, se ha observado en Kenya, Sudán Angloegipcio, Uganda y Sudán Francés (Findlay y col., 1936). El hombre es también susceptible y se han registrado infecciones humanas mortales de laboratorio (Schwentker y Rivers, 1934; Kitchen, 1934; y Findlay, 1936).

El virus de la fiebre del valle del Rift fué aislado primero en 1930 por Daubney y col., quienes también establecieron su papel patógeno en el hombre (Daubney y col., 1931). El tamaño del virus se ha estimado en 23-25 mμ (Broom y Findlay, 1933); se ha cultivado en cultivos de tejido (Mackenzie, 1933). Es destruído a 56° C. en 40 minutos, pero sobrevive en solución de fenol a 40° C. durante seis meses.

Esta enfermedad puede transmitirse a ratones, monos y hurones, pero no a cobayos o conejos. Las vías de inoculación pueden ser: intracerebral, intraperitoneal, intranasal, intradérmica o subcutánea. El animal de elección es el ratón; generalmente muere de 36 a 96 horas después de la inoculación intraperitoneal o intra cerebral (Sabin y Blumberg, 1947). Estudios histopatológicos revelan la existenci: de cuerpos de inclusión acidófilos intranucleares.

En el hombre, la enfermedad se caracteriza por la aparición súbita de dolor d cabeza, fiebre, dolores intensos en músculos, huesos y articulaciones, anorexia, mal estar. En tres días se logra espontáneamente la curación, semejando en este aspecto a la fiebre pappataci (Sabin y Blumberg, 1947). La mayor parte de los casos humanos registrados fueron por infección accidental.

El *período de incubación*, determinado en las infecciones de laboratorio viene a ser de una semana. Las ovejas quedan inmunes después de un ataque de esta enfermedad; el suero de los animales y hombres convalecientes contiene cantidades relativamente elevadas de anticuerpos neutralizantes y fijadores de complemento. Se han encontrado anticuerpos neutralizantes en suero humano y de animales hasta doce años después del ataque inicial (Sabin y Blumberg, 1947).

El modo de *transmisión* de la enfermedad es desconocido, pero se ha demostrado que el virus puede penetrar por el aparato respiratorio o la piel (Francis y Magill, 1935; Sabin y Blumberg, 1947).

El aislamiento del virus puede efectuarse por inoculación intracerebral o intraabdominal del ratón con suero o sangre, pero ésta sólo es infectante si se obtiene durante las primeras horas de enfermedad. La técnica de inoculación al ratón se usa para diferenciar la fiebre del valle del Rift de la fiebre de pappataci y el dengue; ninguno de estos últimos virus es infeccioso para el animal.

FIEBRE DEL FUERTE BRAGG
Fiebre pretibial

Entre el personal militar de Fort Bragg en Carolina del Norte, en 1942, 1943 y 1944, se presentaron brotes de una enfermedad parecida al dengue. La enfermedad está caracterizada por malestar, fiebre, esplenomegalia, leucopenia y una erupción que tiende a localizarse en la parte anterior de las piernas. La infección se incuba en unos 11 días; es de curso breve y benigno (Daniels y Grennan, 1943).

Tatlock (1947) inyectó cobayos con sangre de enfermos y obtuvo un virus que produjo una enfermedad febril no mortal en los cobayos y conejos, pero mortal si se inyecta a hámsteres. El virus, que puede cultivarse en embriones de pollo de 11 días, mata los embriones en una semana.

Si la sangre infectante obtenida de un enfermo se conserva a 70° C. pierde su infecciosidad en 12 días.

Se pueden demostrar substancias neutralizantes en el suero de enfermos convalecientes. La enfermedad se reprodujo en voluntarios humanos pulverizando sus gargantas con líquidos empleados antes para lavar la boca del enfermo.

NEUMONITIS DE LUISIANA

El virus de esta enfermedad se aisló de la sangre, esputo y tejido pulmonar de enfermos humanos que sufrían neumonitis aguda (Olson y Treuting, 1944). Se ha diferenciado serológicamente de otros virus del grupo psittacosis-linfogranuloma (Larson y Olson, 1946). El virus produce infección mortal en el ratón.

FIEBRE DE GARRAPATAS DEL COLORADO

La fiebre de garrapatas del Colorado, en un tiempo considerada como rickettsiasis, ahora se sabe que es enfermedad por virus (Florio y col., 1944, 1946). A pesar del nombre, la enfermedad es distinta de la fiebre manchada de las Montañas Rocosas (Shaffer, 1935). El cuadro clínico semeja al del dengue y la fiebre pappataci, pero inmunológicamente es distinto por completo (Pollard, Livesay y col., 1946; DeBoer y col., 1947; Florio y Miller, 1948). El virus mata al hámster y puede adaptarse al ratón y a los embriones de pollo (Koprowski y Cox, 1947).

ENFERMEDAD DE DURAND

Los investigadores de laboratorio constantemente descubren nuevas infecciones por virus. Así, Durand, en 1940, adquirió una enfermedad caracterizada por síntomas de las vías respiratorias superiores, dolor de cabeza y signos de irritación meníngea. Demostró que estaba causada por un virus. Findlay (1942), que trabajaba con el virus, también contrajo la enfermedad. Los cobayos son susceptibles a la infección; los que se recuperan quedan inmunes. El virus tiene un diámetro de 38-57 mμ y puede cultivarse en embriones de pollo o en cultivos de tejido de embrión. La enfermedad tiene sintomatología variable.

BIBLIOGRAFIA

Influenza

ANDREWES, C. H. *Brit. Med. J.*, 1937, 2:513.
BEARD, J. W. *J. Immunol.*, 1948, 58:49.
——— *South. Med. J.*, 1944, 37:313.
BODILY, H. L. and EATON, M. D. *J. Immunol.*, 1942, 54:193.

BURNET, F. M. *Med. J. Australia*, 1935, 2:687; 1943, 1:385.
——— *Lancet*, 1948, 254:7.
——— *Virus as Organism*, Harvard Univ. Press, Cambridge, 1945.
———, STONE, J. D., and ANDERSON, S. G. *Lancet*, 1946, 1:807.
DINGLE, J. H. *New Eng. J. Med.*, 1947, 237:845.
DUNHAM, W. B., and MACNEAL, W. J. *J. Immunol.*, 1944, 49:123.
FRANCIS, T., JR. *J. Exper. M.*, 1939, 69:283.
——— *Penn. Med. J.*, 1937, 40:249.
——— *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1935, 32:1172.
——— *Science*, 1940, 92:405.
——— and MAGILL, T. P. *Brit. J. Exper. Path.*, 1938, 19:284.
——— and MAGILL, T. P. *J. Exper. M.*, 1936, 63:655; 1935, 62:505.
——— and SALK, J. E. *Science*, 1942, 96:499.
———, SALK, J. E., and BRACE, W. M. *J.A.M.A.*, 1946, 131:275.
———, SALK, J. E., and QUILLIGAN, J. J., JR. *Am. J. Pub. Health*, 1947, 37:1013.
——— and STUART-HARRIS, C. H. *J. Exper. M.*, 1938, 68:789, 803, 813.
FRIEDEWALD, W. F. *J. Exper. M.*, 1944, 79:633.
——— and PICKELS, E. G. *J. Exper. M.*, 1944, 79:301.
HAMBURGER, V., and HABEL, K. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1947, 66:608.
HENLE, G., and HENLE, W. *J. Exper. M.*, 1946, 84:623.
HENLE, W., and HENLE, G. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1945, 50:179.
——— and HENLE, G. *Science*, 1941, 98:87.
———, HENLE, G., HAMPIL, B., MARIS, E. P., and STOKES, J., JR. *J. Immunol.*, 1946, 53:755.
HIRST, G. K. *J. Immunol.*, 1942, 45:293.
———, RICKARD, E. R., and WHITMAN, L. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1942, 50:129.
———, VILCHES, A., ROGERS, O., and ROBBINS, C. L. *Am. J. Hyg.*, 1947, 45:96.
HUDSON, N. P., SIGEL, M. M., and MARKHAM, F. S. *J. Exper. M.*, 1943, 77:467.
JORDAN, E. O. *Epid. Influenza*, Am. Med. Ass., Chicago, 1927.
LEICHTENSTERN, O., and STICKER, G. *Influenzae in the Nineteenth Century*, 2nd ed., Leipzig, 1912.
LENNETTE, E. H., RICKARD, E. R., HIRST, G. K., and HORSFALL, F. L., JR. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1941, 56:1777.
LESCHKE, E. *Berlin klin. Wchnschr.*, 1919, 56:11.
MCCLELLAND, L., and HARE, R. *Canadian Pub. Health J.*, 1941, 32:530.
MCLEAN, I. W., JR., BEARD, D., and BEARD, J. W. *J. Immunol.*, 1947, 56:109.
MAGILL, T. P. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1940, 45:162.
——— and FRANCIS, T., JR. *Brit. J. Exper. Path.*, 1938, 19:273.
MAWSON, J., and SWAN, C. *Med. J. Australia*, 1943, 1:394.
NICOLLE, C., and LEBAILLY, C. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1919, 33:395.
PFEIFFER, R. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1892, 18:28.
SALK, J. E. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1941, 46:709.
——— *J. Immunol*, 1944, 49:87.
——— *J. Immunol.*, 1947, 57:301.
SELTER, H. *Deutsche Med. Wchnschr.*, 1918, 44:932.
SHARP, D. G., TAYLOR, A. R., MCLEAN, I. W., BEARD, D., and BEARD, J. W. *J. Biol. Chem.*, 1945, 159:29.
———, TAYLOR, A. R., MCLEAN, I. W., BEARD, D., BEARD, J. W., FELLER, A. E., and DINGLE, J. H. *J. Immunol.*, 1944, 38:129.
SHOPE, R. E. *J. Exper. M.*, 1931, 54:349, 373; 1935, 62:561; 1936, 64:47, 791.
SIGEL, M. M., SHAFFER, F. W., and HENLE, W. *J. Bacteriol*, 1947, 54:277.
SMADEL, J. E. *Bull. U. S. Army Med. Dept.*, 1947, 7:795.
SMITH, W. *Brit. J. Exper. Path.*, 1935, 16:508.
———, ANDREWES, C. H., and LAIDLAW, P. P. *Lancet*, 1933, 2:66.
STANLEY, W. M. *J. Exper. M.*, 1945, 81:193.
——— *J. Exper. M.*, 1944, 79:255, 267.
STUART-HARRIS, C. H. *Brit. Med. J.*, 1945, 1:209, 251.
TAYLOR, A. R., SHARP, D. G., MCLEAN, I. W., BEARD, D., BEARD, J. W., DINGLE, J. H., and FELLER, A. E. *J. Immunol.*, 1944, 48:361.
———, SHARP, D. G., MCLEAN, I. W., JR., BEARD, D., and BEARD, J. W. *J. Immunol.*, 1945, 50:291.
WHITMAN, L. *J. Immunol.*, 1947, 56:167.
WYCKOFF, R. W. G. *Science*, 1945, 101:129.
YAMANOUCHI, T., SAKAKAMI, K., and IWASHIMA, S. *Lancet*, 1919, 1:971.
Members of the Commission on Influenza. *J. Am. M. Ass.*, 1944, 124:982.

Resfriado común

DOCHEZ, A. R., SHIBLEY, G. S., and MILLS, K. C. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1929, 26:562 1930, 27:59.

——, Mills, K. C., and Kneeland, Y., Jr. *J. Exper. M.*, 1936, 63:559.
——, Mills, K. C., and Kneeland, Y. *J.A.M.A.*, 1938, 110:177.
Fabricant, N. D. *The E. E. N. and T. Monthly*, 1946, 25:615.
Foster, G. B., Jr. *J. Infect. Dis.*, 1917, 21:451.
Kneeland, Y., Jr., Mills, K. C., and Dochez, A. R. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1936, 35:213.
Kruse, W. *München. Med. Wchnschr.*, 1914, 61:1547.
Long, P. H., Doull, J. A., Bourn, J. M., and McComb, E. *J. Exper. M.*, 1931, 53:447.
——, Bliss, E. A., Carpenter, H. M. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1932, 51:278.
Paul, J. H., and Freese, H. L. *Am. J. Hyg.*, 1933, 17:517.
Pollard, M., and Caplovitz, C. D. *Science*, 1947, 106:243.
Powell, H. M., and Clowes, G. H. A. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1931, 29:332.
Rockwell, G. E., and Van Kirk, H. C. *J. Immunol.*, 1935, 28:475, 485.
Sargent, F., Lombard, O. M., and Sargent, V. *Am. J. Hyg.*, 1947, 45:29.
Topping, N. H., and Atlas, L. T. *Science*, 1947, 106:636.
Statistical Bull., Metropolitan Life Insurance Co., 28:6-7 (Nov.) 1947.

Neumonia atipica primaria

Bock, A. V. *Ann. Int. Med.*, 1938, 12:317.
Enders, J. F. *New Eng. J. Med.*, 1947, 237:897.
Murray, M. E., Jr. *New Eng. J. Med.*, 1940, 222:565.
Official Statement: Primary Atypical Pneumonia, Etiology Unknown, *Ward Med.*, 1942, 2:330.
Peterson, O. L., Ham, T. H., and Finland, M. *Science*, 1943, 97:167.
Commission on Acute Respiratory Diseases. *J.A.M.A.*, (Bull. New York Academy of Med.) 1945a, 127:146.
Commission on Acute Respiratory Diseases. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1945b, 79:97.

Fiebre pappataci

Doerr, R. *Berl. klin. Wchnschr.*, 1908, 45:1847.
——, Franz, K., and Taussig, G. *Wien. klin. Wchnschr.*, 1909, 22:609.
Sabin, A. B., and Paul, J. R. *J.A.M.A.*, 1944, 125:693.
——, Philip, C. B., and Paul, J. R. *J.A.M.A.*, 1944, 125:603.
Shortt, H. E., Pandit, C. G., Anderson, W. M. E., and Rao, R. S. *Indian J. Med. Res.*, 1940, 27:847.

Dengue

Ashburn, P. M., and Craig, C. F. *Philippine J. Sci.*, 1907, 2:93.
Cleland, J. B., Bradley, B., and McDonald, W. *Med. J. Australia*, 1916, 2:179.
Downs, W. G., Harper, P. A., and Lisansky, E. T. Suppl. *Am. J. Trop. Med.*, 1947, 27:69.
Graham, H. *J. Trop. Med.*, 1903, 6:209.
Sabin, A. B., Philip, C. B., and Paul, J. R. *J.A.M.A.*, 1944, 125:603.
Shortt, H. E., Rao, R. S., and Swaminath, C. S. *Ind. J. Med. Res.*, 1936, 23:865.
Siler, J. F., Hall, M. W., and Hitchens, A. P. *J.A.M.A.*, 1925, 84:1163.
——, Hall, M. W., and Hitchens, A. P. *Philippine. J. Sci.*, 1926, 29:1.

Fiebre del valle del Rift

Broom, J. C., and Findlay, G. M. *Brit. J. Exper. Path.*, 1933, 14:179.
Daubney, R., Hudson, J. R., and Garnham, P. C. *J. Path. & Bacteriol.*, 1931, 34:545.
Findlay, G. M. *Brit. J. Exper. Path.*, 1936, 17:89.
——, Stefanopoulo, G. J., and MacCallum, F. O. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1936, 29:986.
Francis, T., Jr., and Magill, T. P. *J. Exper. M.*, 1935, 62:433.
Kitchen, S. F. *Am. J. Trop. Med.*, 1934, 14:547.
Mackenzie, R. D. *J. Path. & Bacteriol.*, 1933, 37:75.
Schwentker, F. F., and Rivers, T. M. *J. Exper. M.*, 1934, 59:305.
Sabin, A. B., and Blumberg, R. W. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1947, 64:385.

Fiebre del fuerte Bragg

Daniels, W. B., and Grennan, H. A. *J.A.M.A.*, 1943, 122:361.
Tatlock, H. *J. Clin. Invest.*, 1947, 26:287.

Neumonitis de Luisiana

Larson, C. L., and Olson, B. J. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1946, 61:69.
Olson, B. J., and Treuting, W. L. *U. S. Pub. Health. Rep.*, 1944, 59:1299.
Treuting, W. L., and Olsen, B. J. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1944, 59:1331.

Fiebre de garrapatas del Colorado

DeBoer, C. J., Kunz, L. J., Koprowski, H., and Cox, H. R. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1947, 64:202.
Florio, L., Stewart, M. O., and Mugrage, E. R. *J. Exper. M.*, 1944, 80:165; 1946, 83:1.
———, Hammon, W. McD., Laurent, A., and Stewart, M. O. *J. Exper. M.*, 1946, 83:295.
——— and Miller, M. S. *Am. J. Pub. Health*, 1948, 38:211.
Koprowski, H., and Cox, H. R. *J. Immunol.*, 1947, 57:239, 255.
Pollard, M., Livesay, H. R., Wilson, D. J., and Woodland, J. C. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1946, 61:396.
Shaffer, F. C. *Colorado Med.*, 1935, 32:226.

Enfermedad de Durand

Durand, P. *Arch. de l'Inst. Pasteur.* Tunis, 1940, 29:179.
Findlay, G. M. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1942, 35:303.

CAPITULO LVI

ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR VIRUS CARACTERIZADAS POR ICTERICIA

FIEBRE AMARILLA

La fiebre amarilla parece haberse originado en una región limitada del oeste de Africa; fué traída al hemisferio occidental con los esclavos negros o por aquellos que se dedicaban al tráfico de esclavos (Carter, 1931). La enfermedad difundió rápidamente en su nuevo ambiente e hizo casi inhabitables para el hombre blanco grandes extensiones de América Tropical. Al aumentar las facilidades de transporte, también extendió su radio de acción en el oeste y centro de Africa. Periódicamente, y siempre durante los meses de verano, la fiebre amarilla se corre hacia el Norte, para producir epidemias graves tanto en los Estados Unidos como en Europa. Antes de 1906, los habitantes del litoral oriental de Estados Unidos, hasta Filadelfia y Baltimore en el Norte, y los Estados del Valle del Mississippi, en el Sur, vivían con el temor constante de una reaparición de la fiebre amarilla. La enfermedad era muy contagiosa y, en las epidemias graves, la proporción de casos mortales alcanzaba con frecuencia al 80 por ciento. La zona de estas epidemias esporádicas, que se extendía desde el paralelo 45 de latitud norte hasta el 40 de latitud sur, correspondía a los límites entre los cuales vive el principal mosquito vector, *Aëdes aegypti*.

Durante muchos años se supuso que la enfermedad pasaba de hombre a hombre por contacto directo. En 1848, Josiah Nott avanzó la hipótesis de que la fiebre amarilla era transmitida por insectos, y Carlos Finlay, en 1881, sugirió más específicamente que era transmitida por el mosquito *Aëdes aegypti*. Finlay llamó la atención sobre diversos hechos: 1) las zonas epidémicas de la fiebre amarilla correspondían a aquellas en que se encontraban *Aëdes aegypti;* 2) los mosquitos prevalecían durante los períodos epidémicos, y 3) la enfermedad desaparecía tan pronto como los mosquitos morían por las heladas. Su teoría fué recibida con escepticismo general y olvidada por los científicos hasta 1900, cuando la comisión de la fiebre amarilla empezó a trabajar.

Carter, en 1900, mientras estudiaba una epidemia de fiebre amarilla en Mississippi, aportó nuevos datos a la epidemiología de la enfermedad, al definir el período de incubación extrínseca como el tiempo entre el comienzo de los síntomas en un caso importado de fiebre amarilla y la aparición de otros casos en la vecindad.

La importancia creciente de la enfermedad dió lugar al nombramiento, en 1900, de la Comisión Americana del Ejército para estudiar la fiebre amarilla, encabezada por Reed, Carroll, Agramonte y Lazear. El entusiasmo, el autosacrificio y la precisión científica que caracterizaron el trabajo de estos hombres ha hecho del capítulo de la fiebre amarilla uno de los más brillantes en los anales de las proezas científicas americanas. Vamos a considerarle con algún detalle. El trabajo de estos investigadores fué considerablemente facilitado por las experiencias de Gorgas y otros, quienes habían demostrado que las disposiciones sanitarias ordinarias no limitaban

en modo alguno la diseminación de la fiebre amarilla. La Comisión investigó y pronto eliminó el germen *B. icteroides*, descrito por Sanarelli (1897) como agente de la enfermedad. Procedió entonces a investigar la posibilidad de un huésped mosquito, empezando su trabajo en agosto de 1900. Los investigadores hicieron que diversas especies de mosquitos del género *Aëdes*, entonces llamado *Stegomyia*, picaran a voluntarios humanos no inmunes, después de chupar sangre de pacientes con fiebre amarilla. Los nueve primeros experimentos fueron negativos, pero el décimo, en el cual Carroll fué el sujeto, tuvo éxito. Cuatro días después de ser picado por el insecto infectado, Carroll enfermó gravemente de fiebre amarilla, lo cual no solamente puso en peligro su vida sino que le causó trastornos residuales, de los que murió varios años después. El 13 de septiembre de 1900, Lazear, que trabajaba en los pabellones de fiebre amarilla, observó que un mosquito *Aëdes* se había posado en su mano, y deliberadamente dejó que le picara. Cinco días más tarde enfermó de fiebre amarilla y murió después de una violenta y corta enfermedad.

Después de este comienzo trágico, la Comisión decidió un plan de experimentación más sistemático y cuidadoso. En noviembre de 1900 se estableció una estación experimental, "Campo Lazear", en la vecindad de la Habana, a una milla de la ciudad de Quemados. Se reclutaron 12 voluntarios del Ejército Americano de ocupación, de los cuales tres eran inmunes y nueve no inmunes. Entre los no inmunes había dos médicos. El campo se colocó bajo una estricta cuarentena y solamente a los inmunes y a los miembros de la Comisión se les permitía entrar y salir. Si los individuos no inmunes dejaban el campo se les prohibía volver a entrar y sus plazas eran ocupadas por otros voluntarios no inmunes. Durante diciembre se logró infectar de fiebre amarilla a cinco de los residentes no inmunes por medio de mosquitos infectados, y durante enero y febrero se lograron otras cinco experiencias positivas. Las observaciones clínicas fueron hechas por Carlos Finlay y otros médicos cubanos experimentados. Tan pronto como se establecía el diagnóstico de fiebre amarilla se trasladaban los pacientes al hospital para esta enfermedad, a fin de prevenir la posibilidad de que se diseminara dentro del mismo campo. Todos los mosquitos utilizados en los experimentos se obtuvieron de larvas y se conservaron a unos 26,5° C.

Entonces se repitieron los experimentos en forma modificada. Se construyó una pequeña casa, a la que se dotó de puertas y ventanas con protección contra los mosquitos; su interior se dividió en dos espacios por medio de rejilla de alambre para mosquitos. Dentro de uno de estos espacios se libertaron 15 mosquitos infectados. Siete de ellos habían picado a pacientes de fiebre amarilla, cuatro días antes; cuatro, con ocho días de anterioridad; tres, con doce, y uno, con 24 horas. Entonces penetró en esta habitación un individuo no inmune y permaneció allí unos 30 minutos, dejándose picar por siete mosquitos. Después de esto, la misma persona entró en la habitación donde permaneció un total de 60 minutos, durante los cuales fué picado 15 veces. Cuatro días después, este individuo enfermó con los síntomas típicos de la fiebre amarilla. En la otra habitación, dos individuos no inmunes durmieron durante 12 días y se conservaron en buena salud.

Quedaba ahora por demostrar que los mosquitos eran el único medio de transmisión, excluyendo la posibilidad de infección por contacto con excretas, vómitos u objetos. Para este propósito se construyó otra casa a prueba de mosquitos; dentro de ella se conservó el aire húmedo por evaporación de agua y la temperatura se mantuvo a 32,2° C. por calefacción artificial. Se colocaron en ella materiales como vestidos, ropas de cama, vasos y utensilios de comer manchados con vómitos, sangre y heces de pacientes de fiebre amarilla y tres personas no inmunes la habitaron

durante 20 días. Durante este tiempo estuvieron bajo cuarentena estricta y protegidos de los mosquitos. Cada noche, antes de acostarse, desempaquetaban y sacudían perfectamente los vestidos y los colchones de pacientes de fiebre amarilla y las colgaban y esparcían alrededor de sus lechos. Además, dormían en contacto con mantas y sábanas manchadas por pacientes que habían muerto de fiebre amarilla. Ninguna de estas personas contrajo la enfermedad. Se repitió por dos veces el mismo experimento con otras personas y en ningún caso llegaron a infectarse. Todas las personas no inmunes que tomaron parte en estos experimentos fueron soldados americanos; más tarde se demostró que cuatro de ellos eran susceptibles a la fiebre amarilla, por medio del mosquito o por inyecciones de sangre.

Los resultados obtenidos por las investigaciones de esta Comisión se pueden resumir como sigue: la fiebre amarilla, en condiciones naturales, solamente se adquiere por picadura del mosquito *Aëdes aegypti* hembra *(Stegomyia fasciata)*. Es necesario que el insecto infectante se haya alimentado de un paciente de fiebre amarilla que se halle en los primeros cuatro o cinco días de la enfermedad; debe transcurrir un intervalo de por lo menos doce días antes que pueda infectar a otro ser humano. La succión de sangre de pacientes después del quinto día de la enfermedad no parece que infecte al mosquito. Los experimentos de la comisión para aclarar si el poder infectante se transmitía por vía transovárica, desde un mosquito a la generación siguiente, fueron negativos; tales resultados fueron confirmados posteriormente por Bauer y Hudson en 1928.

Los resultados de la Comisión Americana fueron ratificados por Guiteras en 1901 y Marchoux y colaboradores en 1903. Estos observadores demostraron que la infección podía producirse experimentalmente por la inyección de sangre y suero tomados de un paciente durante los tres primeros días de la enfermedad, pero no después del cuarto, y que 0,1 c.c. de suero bastaba para producir la infección. Estos autores confirmaron también las observaciones de Carroll de que el virus de la enfermedad podía pasar a través de filtros de Berkefeld y Chamberland.

En 1925, bajo los auspicios de la División Internacional de Salubridad de la Fundación Rockefeller, se estudió nuevamente esta cuestión en el sitio de su origen, el oeste de Africa. Los monos nativos de esta región de Africa se encontraron resistentes a la infección por el virus de la fiebre amarilla, pero se pudo transmitir la enfermedad al mono asiático *Macaca mulatta*, lo que permitió investigar extensamente la naturaleza del virus (Stokes y col., 1928). Estos resultados fueron confirmados en el oeste de Africa por Mathis y colaboradores (1928) y subsecuentemente en Sudamérica.

El principal adelanto que siguió fué hecho por Theiler (1930), quien modificó el virus naturalmente viscerotrópico dándole propiedades neurótropas por pasos del agente infeccioso a través de cerebros de ratones. El virus neurotrópico retenía su identidad inmunológica, pero era incapaz de infectar a monos ni a hombres por vía subcutánea. El virus modificado, sin embargo, podía producir encefalitis en monos si se introducía en el cerebro.

El último paso que se logró fué la adaptación del virus neurotrópico a cultivos de tejidos (Lloyd y col., 1936; Soper y Smith, 1938). Después de pasos repetidos a través de muchas generaciones se obtuvo una cepa estabilizada conocida como 17-D. Por depresión de su neurotropismo y viscerotropismo sin alteración de su poder antigénico se pudo utilizar en la inmunización del hombre. La vacuna de este virus que se usa en la actualidad es una emulsión congelada y desecada de embrión de pollo infectado, que se rehidrata con solución salina fisiológica antes del uso. Esta vacuna se ha empleado para inmunizar a más de dos millones de personas en Sud-

américa, muchas otras en Africa y en el ejército americano durante la segunda Guerra Mundial.

La lista de los mártires de la fiebre amarilla es tan larga que no se puede presentar aquí. Incluye soldados, enfermeras, asistentes, técnicos y médicos. Algunos murieron de infecciones adquiridas naturalmente mientras estudiaban la enfermedad; algunos fueron infectados deliberadamente y otros lo fueron accidentalmente en el laboratorio. Sawyer, de quien tomamos muchos datos, en su revisión de 1930, rinde tributo a Adrian Stokes, Noguchi, Alexander Young, Paul Lewis y Theodore Hayne, todos los cuales perdieron sus vidas por infección contraída investigando esta terrible enfermedad.

Morfología. El virus de la fiebre amarilla no se ha visto con el microscopio electrónico, pero los experimentos de filtración indican que es bastante pequeño, de 17 a 28 mμ de diámetro (Finlay y Broom, 1933).

Cultivo. El virus se puede cultivar en tejido de embrión de ratón (Lloyd y col., 1936; Fox, 1947; Fox y Laemmert, 1947). Se desarrolla no solamente en la membrana corioalantoidea, sino también en todo el embrión de pollo (Elmendorf y Smith, 1937).

Resistencia. El virus muere en cinco minutos a 55° C. y se altera rápidamente en solución salina fisiológica, en la de Ringer o en la Tyrode. La bilis lo inactiva rápidamente. En estado de congelación permanece viable durante semanas; desecado y congelado, su actividad persiste durante años.

Estructura antigénica. Las diversas cepas aisladas de diferentes partes de Africa y Sudamérica parecen ser antigénicamente idénticas. El virus empleado para inmunización activa se puede usar como antígeno con el fin de demostrar precipitinas y anticuerpos neutralizantes y fijadores del complemento en los sueros de convaleciente.

Infección espontánea en los animales. Como los monos del este de Africa tienen en sus sueros anticuerpos neutralizantes y son inmunes a la inoculación de virus virulento, es probable que la fiebre amarilla fuera mantenida originalmente por un ciclo mono-mosquito. En el Brasil puede haberse establecido un ciclo similar en el que participen monos nativos sudamericanos y mosquitos que habitan en los árboles.

Infección experimental en animales de laboratorio. El mono asiático *Macaca mulatta* es muy susceptible a la infección experimental y adquiere una enfermedad rápidamente mortal después de recibir sangre de un paciente de fiebre amarilla. En la necropsia se encuentra necrosis extensa del hígado. La inoculación intracerebral del virus provoca una encefalitis mortal.

En los ratones se produce encefalitis después de la inoculación intracerebral; al cabo de algunos pasos, el virus naturalmente viscerotrópico se hace neurotrópico y pierde su capacidad de producir lesiones en el hígado del hombre o del mono, si bien sigue siendo infeccioso para el mono cuando se incuba intracerebralmente.

Tipos clínicos de infección en el hombre. Después de la picadura de un mosquito infectado hay un *período de incubación* corto, de 3 a 6 días, seguido por la rápida presentación de fiebre con síntomas gastrointestinales intensos, ictericia, hematemesis, albuminuria y, con frecuencia, delirio. La ictericia es moderada, pero la postración es profunda y rápidamente se llega a una conclusión decisiva de la enfermedad. El paciente muere entre el quinto y el sexto día o en este tiempo empieza a presentar una mejoría notable; la convalecencia puede ser prolongada. El virus se encuentra en la sangre del paciente algunas horas antes del comienzo de los síntomas, y durante los tres o cuatro primeros días de enfermedad. Un ataque produce inmunidad que persiste toda la vida. En ciertas regiones endémicas del oeste

de Africa se encontró que toda la población adulta era inmune a la fiebre amarilla, lo que se permitió suponer que era por inmunidad racial hasta que se averiguó que todos ellos habían sufrido anteriormente una forma leve de fiebre amarilla.

Transmisión. La enfermedad se transmite comúnmente por el mosquito *Aëdes aegypti*, pero el virus se ha encontrado en ciertos mosquitos infectados naturalmente, como *Aëdes leucocelaenus, Haemogeogus capricorni* y una especie de *Sapethine* (Shannon y col., 1938). El mosquito debe de tomar la sangre del enfermo de fiebre amarilla mientras el virus está presente en ella o sea durante los tres o cuatro primeros días; el mosquito no es infeccioso durante unos doce días, tiempo en el cual el virus se multiplica dentro del insecto e invade finalmente las glándulas salivares. El mosquito permanece infeccioso durante el resto de su vida. En la mayor parte de las especies de mosquitos culícidos, como *Culex fatigans* y *Culex confirmatus*, la hembra pone sus huevos de dos a ocho días después de alimentarse de sangre y rara vez vive más de doce. *Aëdes aegypti* es el único entre los mosquitos culícidos en que la hembra vive largo tiempo después de chupar la sangre y por tanto está bien adaptado para transmitir el virus. Los *Aëdes* machos no chupan sangre y no pueden transmitir la infección. Los culícidos hembras, como las hembras de los anofelinos, prefieren alimentarse al atardecer y en la noche.

La limitación de la fiebre amarilla a los países tropicales y subtropicales se explica por el hecho de que los mosquitos *Aëdes* aparecen en los lugares donde prevalecen temperaturas altas. La temperatura óptima para esta especie se encuentra entre 26° C. y 32° C. A 17° C. deja de alimentarse y a 15° C. prácticamente se paraliza. Para sobrevivir, el insecto requiere una temperatura igual o superior a 22° C. durante la noche y que con regularidad se eleve a 25° C. o más durante el día. La multiplicación del virus en el mosquito se retrasa cuando las condiciones de temperatura son subóptimas; el período de incubación se prolonga en la medida correspondiente.

Tratamiento. No hay tratamiento para la fiebre amarilla. Si bien se produce una inmunidad permanente por inyecciones de vacuna, los sueros de convaleciente, que contienen anticuerpos neutralizantes para el virus, no modifican sensiblemente el curso de la enfermedad.

Prevención. Donde quiera que se ha impedido la pululación de los mosquitos *Aëdes* y de otros vectores, las epidemias de fiebre amarilla han desaparecido. En alguna ocasión se pensó que el virus de la fiebre amarilla había sido eliminado por completo de Centro y Sudamérica, pero la aparición de brotes epidémicos inexplicados en uno u otro lugar dirigió finalmente la atención hacia un tipo de enfermedad conocida como *fiebre amarilla de la selva*. Esta se encuentra en regiones boscosas y terrenos sin desmontar y, lo que es más sorprendente, en ausencia completa de *Aëdes aegypti*. Las cepas de virus aisladas de estos casos de fiebre amarilla son inmunológicamente idénticas a las cepas clásicas. Se ha indicado que probablemente exista un reservorio natural de virus en los animales de la selva, posiblemente monos, y que, en ocasiones, se transmitiría al hombre por mosquitos selváticos. La presencia de tales focos establece un círculo, ya que un individuo que ha adquirido la infección en la selva puede a su vez infectar *Aëdes aegypti* de una zona urbana.

Inmunización activa. Para inmunización activa se utiliza la cepa 17-D, atenuada y modificada, del virus. Aunque la vacuna contiene virus vivo, es completamente innocua. La inmunidad que confiere esta vacuna dura cinco años (Fox y Cabral, 1943; Anderson y Gast-Galvis, 1947). Durante los años 1941 y 1942 las fuerzas armadas de los Estados Unidos usaron varios millones de dosis de vacuna contra la fiebre amarilla. Durante 1942, aparecieron 26 771 casos de ictericia postvacunal, o

sea en el 18 por 1 000 de las personas vacunadas. Al principio se sospechó que el virus se había vuelto activo y estaba produciendo una forma modificada de fiebre amarilla. Sin embargo, pronto se observó que los casos de ictericia se limitaron a individuos que habían recibido determinados lotes de vacuna. Las investigaciones sobre preparación y manejo de tales lotes sugirió que el factor productor de ictericia estaba asociado con el suero humano usado como diluente para la vacuna. Aunque los sueros mezclados usados para diluir provenían de individuos supuestamente normales, los datos epidemiológicos eran tan convincentes que se eliminó el suero diluente en la producción de vacuna y ya no aparecieron más casos de ictericia post-vacunal (Report, 1942).

Diagnóstico. El diagnóstico de fiebre amarilla se puede establecer con bastante certeza examinando un corte microscópico del hígado. En las comunidades primitivas, con medios de transporte inadecuados, se puede obtener una muestra de tejido hepático por medio de una aguja de biopsia, conservándola en formaldehido para enviarla a un laboratorio central de diagnóstico. Soper y sus colaboradores (1934), de la División Internacional de Sanidad de la Fundación Rockefeller, introdujeron la práctica de recoger tales muestras de hígado de todas las personas moribundas de una enfermedad febril de menos de once días de curación, sea cual fuere el diagnóstico clínico. Desde que se estableció este procedimiento sencillo e innocuo se han examinado muchos cientos de muestras y se ha descubierto la fiebre amarilla en regiones donde nunca se había sospechado.

Como, al parecer, los anticuerpos neutralizantes persisten en la sangre indefinidamente en los pacientes curados de fiebre amarilla, se puede usar la prueba de neutralización con virus adaptado al ratón y sueros de individuos de diferentes edades de una comunidad. Así resulta posible calcular en qué fecha se presentó por última vez la fiebre amarilla en esa región (Sawyer y Lloyd, 1931).

Perlowagora y Hughes (1947) comunicaron el uso de un antígeno globulínico específico para la reacción de fijación del complemento en la fiebre amarilla. Con este antígeno, los autores pudieron demostrar que los anticuerpos se forman regularmente después de la infección por la fiebre amarilla pero no después de la vacunación.

HEPATITIS EPIDEMICA

Ictericia catarral, hepatitis infecciosa

Esta enfermedad se ha conocido durante muchas generaciones con el nombre de ictericia catarral. Se supuso que era una inflamación no específica de las vías biliares que ocasionaba éxtasis temporal de la bilis y resorción de ésta. La enfermedad, que ocurre más comúnmente en niños y adultos jóvenes, suele ser endémica en los países civilizados. Sin embargo, al igual que la meningitis, aumenta en frecuencia cuando se movilizan para la guerra gran número de hombres (Horstmann y col., 1947). Hubo brotes epidémicos extensos en el ejército de Napoleón en Egipto, en las tropas de la Unión Americana en la Guerra Civil y en las británicas y francesas estacionadas en la zona mediterránea, durante las dos últimas Guerras Mundiales.

Durante la segunda Guerra Mundial se ha reconocido la naturaleza virósica de esta enfermedad y ha sido transmitida a voluntarios humanos (McCallum y Bradley, 1944; Havens y col., 1944). Es notable la prevalencia de las epidemias en otoño e invierno.

La enfermedad es específica del hombre. Todos los intentos para transmitir la infección a cobayos, ratones blancos, ratas, conejos, hámsteres, gatitos, gerbos, man-

driles y diversos monos, incluyendo los chimpancés, han fracasado (Van Rooyen y Gordon, 1942; Havens y Ward, 1945).

El virus es filtrable, pero no se desarrolla en huevos de gallina embrionados (Findlay y Wilcox, 1945; Havens, 1945). Resisten la temperatura de 56° C. durante 30 minutos; se ha podido conservar en filtrados deshidratados durante cuatro meses y a —70° C. durante 16 meses (Havens y Wenner, 1946).

Poder patógeno. La infección se caracteriza por fiebre, anorexia, náuseas, vómitos y molestias abdominales. El comienzo puede ser lento o brusco, y la ictericia, cuando ocurre, suele aparecer de cinco a siete días después del comienzo, coincidiendo por tanto con la vuelta de la temperatura a la normal. Los cortes histológicos del material de biopsia revelan necrosis y autólisis difusas de las células hepáticas; algunas de ellas contienen cuerpos de inclusión intracelular acidófila. En la convalecencia tiene lugar una regeneración casi completa e incluso total, de la arquitectura lobular, si bien, con frecuencia persiste durante meses una infiltración periportal. El pronóstico es bueno y la mayor parte de los pacientes se recuperan en dos o más semanas; pero en un cinco por ciento de los casos la convalecencia se prolonga con síntomas de la laxitud, debilidad, depresión mental y anorexia. Un ataque de hepatitis infecciosa suele ir seguido de inmunidad (Neefe, Stokes y Gellis, 1945). Havens (1946) reinoculó a convalecientes con la misma cepa de virus, después de 6 a 9 meses y comprobó que eran resistentes.

Transmisión. El virus se ha encontrado tanto en la sangre como en las heces de los pacientes que sufren la enfermedad. Se han descrito epidemias (Report, 1943) transmitidas por el agua (Neefe y Stokes, 1945), la leche (Murphy y col., 1946) y alimentos (Read y col., 1946). La diseminación directa de persona a persona parece ser común, aunque los datos experimentales indican que el circuito intestino-boca es el método más importante de transmisión (Havens, 1946). Como el virus se encuentra en la sangre hay que tener en cuenta la posibilidad de transmisión por un donador infectado (Francis y col., 1946). Algunos investigadores han encontrado el virus en los lavados nasofaríngeos al tiempo que fué demostrable en suero y en las deyecciones.

La enfermedad ha sido transmitida a voluntarios humanos por administración parenteral de sangre y por ingestión de cápsulas que contenían heces y otros materiales infecciosos obtenidos de los pacientes en fase preictérica o ictérica de la enfermedad (Havens, 1945). Sin embargo, en la ictericia por suero homólogo el virus sólo se encuentra en la sangre durante el período de incubación y en las fases preictérica e ictérica de la enfermedad.

Tratamiento. La globulina gamma obtenida de sueros humanos mezclados disminuiría los síntomas de la enfermedad si se administra al principio del período de incubación (Stokes y Neefe, 1945).

Prevención. El virus persiste en las deposiciones hasta un mes después del comienzo de los síntomas. En consecuencia, las heces, y posiblemente la orina, deben considerarse tan infecciosos como en la fiebre tifoidea. Todas las agujas y jeringas que han estado en contacto con la sangre de estos pacientes deben esterilizarse con cuidado y nadie que haya tenido hepatitis epidémica deberá actuar como donador de sangre hasta por lo menos un año después de terminada la enfermedad.

La enfermedad se puede prevenir si se administra globulina gamma durante el período de incubación y por lo menos seis días antes del comienzo de los síntomas clínicos (Stokes y Neefe, 1945). La aplicación de los conocimientos modernos en materia sanitaria es esencial para prevenir la diseminación de la enfermedad. Deben vigilarse los suministros de leche y agua, deben eliminarse las moscas y es necesa-

rio instituir un programa educativo intenso, fomentando el aseo personal, para disminuir las probabilidades del ciclo heces-alimentos-dedos. *

ICTERICIA POR SUERO HOMOLOGO

Esta virosis, descubierta durante la segunda Guerra Mundial, es única por cuanto la combinación jeringa y aguja es el solo vector conocido. Como la lesión característica es una hepatitis y el síntoma principal la ictericia, la enfermedad en muchos aspectos remeda la hepatitis infecciosa.

En 1938 apareció ictericia en un pequeño grupo de individuos que habían recibido inyecciones de suero de convalecientes de sarampión (Report, 1938). Esta observación fué seguida por las referencias de ictericias aparecidas después de la administración de vacunas hechas con sueros humanos (Findlay y MacCallum, 1938; Soper y Smith, 1938). La enfermedad ha sido también producida por inyección de plasma y sangre total (Beeson y col., 1944; Rappaport, 1945; Grossman y col., 1945; Apley y Wallis, 1948). El estímulo más importante para la investigación de esta enfermedad fué la aparición de ictericia en el personal militar que había recibido vacuna de la fiebre amarilla que contenía suero humano como diluente. Durante la segunda Guerra Mundial varios millones de soldados americanos recibieron la vacuna y por lo menos se reconocieron 28 585 casos de ictericia por suero homólogo (Report, 1942).

Morfología y cultivo. El agente causal es filtrable, pero su tamaño exacto no se ha determinado; no ha sido cultivado sobre ninguna clase de medios vivos o muertos.

Resistencia. El agente es resistente al frío y a la desecación; se ha podido mantener congelado durante meses. Resiste los 56° C. durante 60 minutos, pero se destruye por ebullición.

Animales de laboratorio. Prácticamente, todos los animales domésticos y muchos silvestres han sido inyectados con sangre de pacientes de ictericia por suero homólogo; los resultados han sido casi uniformemente negativos.

Tipos clínicos de infección en el hombre. La infección se produce por administración parenteral de sangre total, plasma o suero humano que contiene el virus. El *período de incubación* es, con notables excepciones, de 60 a 120 días. Por el largo período de incubación el virus se halla en la sangre durante mucho tiempo. Se ha demostrado durante el último cuarto del período de incubación y en la fase aguda de la enfermedad, pero no durante la convalecencia (Havens, 1946). No se ha encontrado al agente infeccioso en las deyecciones ni lavados nasofaríngeos; un suero que se sabe contiene el virus no es infeccioso cuando se administra por la boca. No se ha registrado ningún caso de diseminación espontánea de la enfermedad de hombre a hombre.

Los síntomas son notablemente similares a los de la hepatitis infecciosa, pero en general menos intensos. El virus de la ictericia por suero homólogo, sin embargo, desde el punto de vista antigénico es diferente del de la hepatitis infecciosa por cuanto no hay inmunidad cruzada entre las dos infecciones.

El origen de esta enfermedad es un misterio completo. Cabe suponer que sea o una virosis cuyo vector natural no se ha descubierto o una forma modificada de hepatitis infecciosa. Según la última hipótesis habría que suponer que el virus de la

* Para una revisión más completa de esta materia, remitimos al lector a las series de artículos de Havens y otros publicados en el Boletín de la Academia de Medicina de Nueva York, 1948, 24:195.

hepatitis infecciosa se modificara substancialmente, incluso en sus antígenos constituyentes, por la estancia prolongada fuera del cuerpo en los preparados de suero antes de ser inyectados a un ser humano susceptible.

Prevención. La prevención constituye verdaderamente un problema difícil, ya que el virus se encuentra en el suero durante meses antes de la aparición de los síntomas. El problema podría solucionarse suprimiendo la sangre humana o sus derivados como agentes terapéuticos, pero ello resulta prácticamente imposible.

BIBLIOGRAFIA

Fiebre amarilla

ANDERSON, C. R., and GAST-GALVIS, A. *Am. J. Hyg.*, 1947, 45:302.
BAUER, J. H., and HUDSON, N. P. *Am. J. Trop. Med.*, 1928, 8:371.
——— *J. Exper. M.*, 1928, 48:147.
CARTER, H. R. *New Orleans Med. & Surg. J.*, 1900, 52:617.
——— *Yellow Fever*, Ed. by L. A. Carter and W. H. Frost, Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1931.
ELMENDORF, J. E., and SMITH, H. H. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1937, 36:171.
FINDLAY, G. M., and BROOM, J. C. *Brit. J. Exper. Path.*, 1933, 14:391.
FINLAY, C. *An. r. Acad. de cien. méd. de la Habana*, 1881.
FOX, J. P., and CABRAL, A. S. *Am. J. Hyg.*, 1943, 37:93.
——— *Am. J. Hyg.*, 1947, 46:1.
——— and LAEMMERT, H. W., JR. *Am. J. Hyg.*, 1947, 46:21.
GORGAS, W. C. *J. Trop. M.*, 1903.
GUITERAS, R. *Rev. de méd. Trop.*, Habana, Jan., 1901.
——— *Am. Med.*, 1901, 11.
LLOYD, W., THEILER, M., and RICCI, N. I. *Trans. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1936, 29:481.
MARCHOUX, SALIMBENI, and SIMOND. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1903, 17:665.
MATHIS, C., SELLARDS, A. W., and LAIGRET, J. *Compt. rend. Acad. sc.*, 1928, 186:604.
NOTT, J. C. *New Orleans Med. & Surg. J.*, 1848, 4:563.
PERLOWAGORA, A., and HUGHES, T. P. *J. Immunol.*, 1947, 55:103.
REED, W., CARROLL, J., AGRAMONTE, A., and LAZEAR, J. *Philippine Med. J.*, October, 1900; *U. S. Pub. Health Rep.*, 1903.
SANARELLI, G. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1897, 11:433.
——— *Brit. Med. J.*, 1897, 2:7.
SAWYER, W. A. Recent Progress in Yellow Fever Research, DeLamar Lecture, Johns Hopkins Univ. School of Hyg. & Pub. Health, 1930.
——— *Medicine*, 1931, 10:509.
——— and LLOYD, W. *J. Exper. M.*, 1931, 54:533.
SHANNON, R. C., WHITMAN, L., and FRANCA, M. *Science*, 1938, 88:110.
SOPER, F. L., RICKARD, E. R., and CRAWFORD, D. J. *Am. J. Hyg.*, 1934, 19:549.
——— and SMITH, H. H. *Am. J. Trop. Med.*, 1938, 18:111.
STOKES, A., BAUER, J. H., and HUDSON, N. P. *J. Am. M. Ass.*, 1928, 90:253.
THEILER, M. *Ann. Trop. Med. & Parasit.*, 1930, 24:249.
REPORT, *J.A.M.A.*, 1942, 119:1110; 1942, 120:51.

Hepatitis epidémica

FINDLAY, G. M., and WILCOX, R. R. *Lancet*, 1945, 1:212.
FRANCIS, T., JR., FRISCH, A. W., and QUILLIGAN, J. J., JR. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1946, 61:276.
FRASER, R. *Canad. Pub. Health J.*, 1931, 22:396.
HAVENS, W. P., JR. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1945, 58:203.
——— *J. Exper. M.*, 1946, 83:251.
——— and WARD, R. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1945, 60:102.
——— and WENNER, H. A. *J. Clin. Invest.*, 1946, 25:45.
———, DRILL, V. A., and PAUL, J. R. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1944, 57:206.
HORSTMANN, D. M., HAVENS, W. P., JR., and DEUTSCH, J. *J. Pediat.*, 1947, 30:381.
NEEFE, J. R., and STOKES, J., JR. *J.A.M.A.*, 1945, 128:1063.
———, STOKES, J., JR., and GELLIS, S. S. *Am. J. Med. Sci.*, 1945, 210:561.
MACCALLUM, F. O., and BRADLEY, W. H. *Lancet*, 1944, 2:228.
MURPHY, W. J., PETRIE, L. M., and WORK, S. D. *Am. J. Pub. Health*, 1946, 36:169.
READ, M. R., BANCROFT, H., DOULL, J. A., and PARKER, R. F. *Am. J. Pub. Health*, 1946, 36:367.
STOKES, J., JR., and NEEFE, J. R. *J.A.M.A.*, 1945, 127:144.

van Rooyen, C. E., and Gordon, I. *J. Roy. Army Med. Corps*, 1942, 79:213.
Voegt, H. *München. med. Wchnschr.*, 1942, 89:76.
Bulletin New York Academy of Medicine, 1948, 24:195.
Report, *Health Bulletin*, Edinburgh, 1943.

Ictericia por suero homólogo

Apley, J., and Wallis, H. R. E. *Brit. Med. J.*, 1948, No. 4543, p. 197.
Beeson, P. B., Chesney, G., and McFarlan, A. M. *Lancet*, 1944, 1:814.
Findlay, G. M., and MacCallum, F. O. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 1938, 31:799.
Grossman, E. B., Stewart, S. G., and Stokes, J., Jr. *J.A.M.A.*, 1945, 129:991.
Havens, W. P., Jr. *J. Exper. M.*, 1946, 83:251, 441; 84:403.
Neefe, J. R., Stokes, J., Jr., and Gellis, S. S. *Am. J. Med. Sci.*, 1945, 210:561.
Paul, J. R., Havens, W. P., Jr., Sabin, A. B., and Philip, C. B. *J.A.M.A.*, 1945, 128:911.
Rappaport, E. M. *J.A.M.A.*, 1945, 128:932.
Soper, F. L., and Smith, H. H. *Am. J. Trop. Med.*, 1938, 18:111.
Report, *Annual Rep. Chief Med. Officer*, Ministry of Health, London, 1938.
Report, *J.A.M.A.*, 1942, 119:1110.

CAPITULO LVII

PAROTIDITIS EPIDEMICA

PAPERAS

Las paperas (parotiditis epidémica) constituyen una infección difícil de circunscribir, una vez que ha comenzado en una comunidad. Las epidemias de paperas en el ejército se diseminan con rapidez, sin obedecer a las medidas preventivas ordinarias. Es principalmente una enfermedad de los niños entre quienes se propaga en escuelas e instituciones similares. Sin embargo, es menos contagiosa que el sarampión y la varicela; en consecuencia, los que escapan a la infección en la infancia llegan a la edad adulta siendo susceptibles. La enfermedad se caracteriza por un engrosamiento doloroso, no supurado, de las parótidas, con frecuencia también de otras glándulas salivales y, a veces, de testículos, ovarios y páncreas. Las dos complicaciones más frecuentes (Humphries, 1947) son la orquitis y la meningoencefalitis.

Aunque Hipócrates escribió una descripción clásica de las paperas, no se hizo progreso alguno para aclarar la naturaleza del agente infeccioso hasta 1908, cuando Granata produjo parotiditis en conejos por inoculación directa de filtrados de saliva de pacientes con paperas (Wesselhoeft, 1940). En ese tiempo, Granata sugirió que las paperas podrían estar causadas por un agente filtrable. En 1916, Wollstein produjo alteraciones en los testículos y parótidas de gatos, por inyección de filtrados de secreciones recogidas de pacientes. Johnson y Goodpasture presentaron en 1934 pruebas concluyentes de la naturaleza virósica de la infección; estos autores produjeron paperas típicas en *Macacus rhesus* inoculando las parótidas, a través del conducto de Stenon, con saliva de pacientes; su trabajo fué confirmado por Findlay y Clarke (1934).

Morfología. El virus de las paperas no produce cuerpos de inclusión, pero ha sido fotografiado con microscopio electrónico (figs. 158, 159). Habel, en 1945, comprobó que pasa a través de membranas de colodión con poros de 540 mμ, pero no a través de membranas con poros de 380 ó 250 mμ; el virus tendría, pues, unas 340 mμ de diámetro; sin embargo, se puede probar que es menor. El virus no es homogéneo en cuanto a tamaño y tiende a formar agregados en ciertos vehículos líquidos. Puede pasar a través de un filtro de Berkefeld V o N, con presión de dos a cinco libras.

Cultivo. Después de un período de adaptación, el virus se desarrolla fácilmente en huevos embrionados (Habel, 1945). Las primeras inoculaciones deben hacerse en el saco amniótico o en el saco vitelino, pero después de cuatro a seis pasos el virus se puede obtener del líquido corioalantoideo. Por lo general, el embrión sobrevive a la infección.

Resistencia. El virus resiste la congelación, la desecación y el tratamiento por glicerina; se inactiva a 55° C. en 20 minutos, por el formol, el éter y la radiación ultravioleta.

Estructura antigénica. Al parecer, hay por lo menos dos tipos antigénicos de virus de paperas (Henle y col., 1947). La cantidad máxima de antígeno fijador del complemento, presumiblemente el mismo virus de las paperas, se encuentra en las glándulas parótidas de los monos cinco a seis días después de la inoculación y dos a cuatro días antes que las glándulas empiecen a hincharse. Con el uso de tal antígeno se han demostrado anticuerpos fijadores del complemento en los sueros de hombres y monos convalecientes (Enders y Cohen, 1942). En el mono, los anticuerpos fijadores del complemento aparecen bruscamente 7 a 14 días después de la inoculación, alcanzando un máximo hacia el duodécimo o vigésimo primer día; empiezan a declinar después de la cuarta a la sexta semana. Los anticuerpos persisten en el suero durante uno a dos años. En el hombre, los anticuerpos fijadores de complemento suelen aparecer entre los días quinto y décimocuarto después del comienzo de los síntomas, y alcanzan la concentración máxima en el curso de la siguiente semana. Entonces el título puede decrecer rápidamente y los anticuerpos fijadores del complemento pueden haber desaparecido al acabar el segundo año después de la infección (Enders y col., 1945). Estos autores encontraron anticuerpos fijadores del complemento en el 79 por 100 de las personas que tenían el antecedente clínico de paperas en algún momento de su vida; pero también se encontraron anticuerpos en el 57 por 100 de los que no referían nada de la enfermedad. Estos interesantes hallazgos permiten suponer que en el hombre ocurren con frecuencia infecciones subclínicas, y que el mantenimiento de los títulos de anticuerpos por largos períodos de tiempo resulta de exposiciones frecuentes al virus en condiciones naturales.

El virus inactivado de las paperas, obtenido del líquido corioalantoideo de huevos de gallina infectados, se ha utilizado para cutirreacciones. Se inyecta intracutáneamente en el antebrazo una décima de c.c. de una dilución al cuarto del material, y como testigo se inyecta igual volumen de líquido corioalantoideo normal. A las 48 horas se mide en dos diámetros el tamaño de la reacción eritematosa dérmica y se observa el grado de induración. Una respuesta eritematosa de 15 mm o más se interpreta como indicadora de cierto grado de resistencia a la infección; una reacción de menos de 15 mm significa susceptibilidad a las paperas. Como, por lo general, se obtienen reacciones mayores en individuos inmunes, el fenómeno es probablemente de sensibilidad a la proteína del virus, posible resultado de una exposición previa. Las observaciones de Enders (1947) sugirieron que ello significaría también cierto tipo de inmunidad relativa; este autor encontró que los pacientes adultos que reaccionaban positivamente a la prueba cutánea dos días después del comienzo de los síntomas estaban menos propensos a tener complicaciones.

El virus de las paperas, como el de la influenza, tiene la propiedad de aglutinar los glóbulos rojos del pollo; esta prueba puede usarse para descubrir el virus en el huevo de gallina o para determinar la presencia de cuerpos de inmunidad en la sangre del paciente (Hirst, 1941; Salk, 1944; Levens y Enders, 1945). Sin embargo, creemos que se pueden obtener resultados más constantes usando la reacción de fijación del complemento.

Infección experimental en animales de laboratorio. Como ya se ha observado al principio, la parotiditis se puede producir tanto en el gato como en el mono por inoculación directa de saliva, filtrada o sin filtrar, en la glándula parótida a través del conducto de Stenon (Wollstein, 1916; Johnson y Goodpasture, 1936; Findlay y Clarke, 1934). Se ha discutido mucho la susceptibilidad del conejo al virus de las paperas (Nicolle y Conseil, 1913).

Tipos clínicos de infección en el hombre. Si la madre ha tenido paperas, los cuerpos de inmunidad pasan a través de la placenta y la mayor parte de los niños son inmunes durante los primeros seis meses de la vida. La infección se adquiere por contacto directo o, más probablemente, por gotitas aerógenas. El *período de incubación* es largo, entre 17 y 21 días. El *período de infecciosidad* comienza unos siete días antes de empezar los síntomas y desaparece al declinar la inflamación de las glándulas. La cuarentena debe mantenerse hasta la completa remisión de los síntomas.

Los niños con paperas suelen estar molestos, pero no gravemente enfermos. Por lo general, a la inflamación de las glándulas salivales precede fiebre moderada y ligera congestión de las vías respiratorias superiores. Se sabe por vieja experiencia que el saborear salazones o aun la vista de algo salado o ácido puede causar dolor agudo en las parótidas de un niño con paperas. Esto se atribuye al aumento de la actividad glandular cuando existen obstrucciones resultantes del proceso infeccioso. Las paperas son más graves en los adultos; la complicación más frecuente es una orquitis dolorosa que puede llevar a la atrofia testicular, e incluso a la esterilidad. La ovaritis es menos grave por cuanto el ovario inflamado y edematoso no está limitado por una túnica fibrosa gruesa. La meningitis, la encefalitis y la meningoencefalitis por el virus de las paperas pueden ocurrir con parotiditis o sin ella. Bang y Bang (1943), quienes examinaron el líquido cefalorraquídeo de 371 pacientes con paperas, encontraron que un tercio de los pacientes no tenían signo alguno de meningitis y un tercio tenían pleocitosis sin síntomas meníngeos. Swan y Mawson (1943), Henle y MacDougall (1947) y otros autores han aislado el virus del líquido cefalorraquídeo, pero la mejor prueba diagnóstica de laboratorio es la demostración en el suero de anticuerpos específicos fijadores del complemento. Otras complicaciones son pancreatitis, mastitis y neuritis.

Transmisión. Suele requerirse un contacto más íntimo y prolongado para la transmisión de las paperas que para el sarampión o la varicela. Durante la primera Guerra Mundial hubo miles de casos de paperas entre los reclutas jóvenes de zonas rurales, pero durante la segunda ocurrieron pocos casos en los campos del ejército. Las facilidades de transporte logradas entre las dos guerras ha dado, probablemente, lugar a una exposición mucho mayor de la totalidad de la población infantil de los Estados Unidos (McGuinness y Gall, 1944).

Productos biológicos. Se están produciendo vacunas y material para cutirreacción con virus cultivado en huevos de gallina embrionados. La reacción de fijación de complemento, usando el antígeno cultivado o porciones de parótida infectada de mono, se ha utilizado para establecer el diagnóstico.

Tratamiento. Por lo general, el paciente con paperas no requiere tratamiento específico. Se ha indicado que la globulina gamma obtenida de sueros de convalecientes de paperas, administrada al principio de la enfermedad en cantidad de 20 c.c., reduce la frecuencia de orquitis desde el 27,7 por ciento al 7,8 por ciento (Gellis, McGuinness y Peters, 1945).

Prevención. La inmunidad pasiva es ineficaz, a menos que se administren dosis enormes de suero.

Se están haciendo ensayos, especialmente por Stokes y sus colaboradores (1946) y Beveridge y Lind (1947), con el fin de producir un agente eficaz para inmunización activa. Enders y colaboradores (1946) encontraron que el virus de las paperas, después de 25 pasos en embrión de pollo, ya no era capaz de producir paperas típicas en hombres susceptibles, pero originaba cierta respuesta, como lo indicaba la aparición de anticuerpos fijadores del complemento en los sueros de algunos de los inoculados.

BIBLIOGRAFIA

Bang, H. O., and Bang, J. *Acta Med. Scand.*, 1943, 113:487.
Beveridge, W. I. B., and Lind, P. E. *Australian J. Exp. Biol. & Med. Sci.*, 1947, 25:338.
Burnet, F. M. *Brit. J. Exper. Path.*, 1946, 27:244.
Enders, J. F. *J. Pediat.*, 1946, 29:129.
——— Am. Med. Assn. Convention, Atlantic City, 1947.
——— and Cohen, S. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1942, 50:180.
——— and Kane, L. W. *J. Exper. M.*, 1945, 81:119.
——— and Levens, J. H. *J. Exper. M.*, 1945, 81:93.
———, Levens, J. H., Stokes, J., Maris, E. P., and Berenberg, W. *J. Immunol.*, 1946. 54:283.
Findlay, G. M., and Clarke, L. P. *Brit. J. Exper. Path.*, 1934, 15:309.
Gellis, S. S., McGuinness, A. C., and Peters, M. *Am. J. Med. Sci.*, 1945, 210:661.
Granata, S. *Med. ital.*, 1908, 6:647.
Habel, K. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1945, 60:201.
Henle, G., Henle, W., and Harris, S. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1947, 64:290.
——— and McDougall, C. L. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1947, 66:209.
Hirst, G. K. *Science*. 1941, 94:22.
Humphries, J. *Am. J. Med. Sci.*, 1947, 213:354.
Johnson, C. D., and Goodpasture, E. W. *J. Exper. M.*, 1934, 59:1.
——— and Goodpasture, E. W. *Am. J. Hyg.*, 1934, 21:46; 1936, 23:329.
Kane, L. W., and Enders, J. F. *J. Exper. M.*, 1945, 81:137.
Levens, J. H., and Enders, J. F. *Science*, 1945, 102:117.
McGuinness, A. C., and Gall, E. A. *War Med.*, 1944, 5:95.
Nicolle, C., and Conseil, E. *Compt. rend. Soc. de biol.*, 1913, 75:217.
Salk, J. E. *J. Immunol.*, 1944, 49:87.
Stokes, J., Enders, J. F., Maris, E. P., and Kane, L. W. *J. Exper. M.*, 1946, 84:407.
Swan, C., and Mawson, J. *Med. J. Australia*, 1943, 1:411.
Wesselhoeft, C. *Virus and Rickettsial Diseases*. Harvard Univ. Press, Cambridge, 1940, page 310.
Whitman, L. *J. Immunol.*, 1947, 56:167.
Wollstein, M. *J. Exper. M.*, 1916, 23:353.

CAPITULO LVIII

VIROSIS DEL HOMBRE CARACTERIZADAS POR DIARREA

DIARREA EPIDEMICA

Enfermedad de Reimann

Durante muchos años se han conocido brotes epidémicos de diarrea infecciosa, especialmente en escuelas e instituciones similares. Reimann y colaboradores, en 1945, publicaron sus investigaciones en ocasión de una de tales epidemias entre los estudiantes de Medicina de Filadelfia. Esta enfermedad relativamente benigna se caracteriza por comienzo agudo con síntomas que duran 24 a 48 horas. Siguen a un período de incubación de unos dos días, y consisten principalmente en anorexia, náuseas, vómitos, diarrea, malestar, retortijones de vientre y vértigo. La fiebre es rara, como en las infecciones leves de las vías respiratorias superiores. Esta enfermedad, que ocurre con mayor frecuencia en otoño, parece tener predilección por los niños y jóvenes.

La enfermedad parece transmitirse por vía respiratoria. El 50 por ciento de jóvenes adultos voluntarios presentaron síntomas dentro de los cuatro días que siguieron a la inhalación de gargarismos filtrados nebulizados o pulverizaciones de deyecciones filtradas obtenidas de pacientes infectados. Una prueba adicional en favor de que la enfermedad se transmite por vía respiratoria la constituyó la imposibilidad de producir síntomas en voluntarios que deglutieron cápsulas con filtrados de gargarismos o de deyecciones. El agente activo no infectaba ni a los ratones, ni a la membrana corioalantoidea de los huevos de gallina embrionados.

DIARREA EPIDEMICA DEL RECIEN NACIDO

La tendencia creciente a dar a luz en el hospital se ha acompañado de una frecuencia cada vez mayor de trastornos diarreicos en los recién nacidos (Frant y Abramson, 1945; Clifford, 1947). Se ha inculpado a muchos agentes, pero desde algún tiempo se ha sospechado, por lo menos para algunas de las epidemias, una etiología virósica (Lyon y Folsom, 1941; Campbell, 1945; Souther, 1943; High y col., 1946; Smillie y col., 1948).

Light y Hodes, en 1943, publicaron los resultados de los estudios de dos epidemias en 1941 y 1942. Los filtrados libres de bacterias de las deyecciones obtenidas de pacientes infectados se administraron por vía intranasal a terneros jóvenes. Estos animales presentaron, en dos a cinco días, una diarrea mucosanguinolenta que duró tres semanas; se comprobó que la infección se podía transmitir de ternero a ternero.

Buddingh y Dodd (1944) aislaron un agente filtrable, que se creyó diferente del de Light y Hodes, en un grupo de niños con estomatitis, y describieron una prueba de escarificación en el ojo del conejo, a la que atribuyeron valor diagnóstico. Cummings (1947), sin embargo, ha demostrado que no es específica.

Cultivo. Los intentos para cultivar el virus no han tenido éxito.

Resistencia. El virus se inactiva por ebullición durante diez minutos y por exposición a 80° C. durante una hora (Light y Hodes, 1943).

Estructura antigénica. Las cuatro cepas aisladas por Light y Hodes (1943) eran inmunológicamente idénticas, según se demostró por estudios de inmunidad cruzada. Los terneros, una vez curados de la infección, eran inmunes a la inoculación intranasal del virus. El suero de niños convalecientes también proporcionó protección más o menos completa a otros niños. No se sabe si los virus aislados por Light y Hodes (1943), Cummings (1947) y Buddingh y Dodd (1944) son el mismo; quizá diversos virus sean responsables de epidemias diferentes (Dodd, 1947).

Infección experimental en animales de laboratorio. Los terneros recién nacidos son los únicos animales sensibles a la infección con el virus. Ratones, monos, cobayos, pollos, ratas algodoneras, embriones de pollo, hámsteres y cerdos recién nacidos no se infectan por inoculación del virus (Cummings, 1947; Light y Hodes, 1943).

Tipo clínico de infección en el hombre. La diarrea epidémica del recién nacido es una enfermedad del primer mes de la vida. La infección, muy contagiosa, con alta morbilidad y mortalidad, se caracteriza por diarrea acuosa, pérdida de peso, inanición, deshidratación y acidosis. No hay criterio clínico para distinguir el cuadro y poderlo considerar de origen virósico.

El tratamiento está destinado a mantener el equilibrio de líquidos e incluye medidas generales de sostenimiento.

Prevención. Deben bloquearse todas las vías posibles por las cuales un niño puede adquirir la infección. Se someterá a estricto aislamiento la sala de niños; se recomienda el de aquellos que presenten la enfermedad. Si se infectan tres o más niños en la misma enfermería debe pensarse en la diarrea del recién nacido, y se notificará a la autoridad sanitaria. En presencia de un brote de la enfermedad, la experiencia demuestra que la única medida eficaz es el cierre de toda la unidad obstétrica, suprimiendo las admisiones (Clifford, 1947). El método profiláctico ideal consistiría en disponer de una habitación privada para cada niño con objeto de evitar el contacto con los demás.

BIBLIOGRAFIA

Diarrea epidémica

ENDERS, J. F. *New Eng. J. Med.*, 1947, 237:898.
REIMANN, H. A., HODGES, J. H., and PRICE, A. H. *J.A.M.A.*, 1945, 127:1.
———, PRICE, A. H., and HODGES, J. H. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1945, 59:8.

Diarrea epidémica del recién nacido

BUDDINGH, G. J., and DODD, K. *J. Pediat.*, 1944, 25:105.
CAMPBELL, K. I. *Med. J. Australia*, 1945, 1:79.
CLIFFORD, S. H. *New Eng. J. Med.*, 1947, 237:969.
CUMMINGS, G. D. *J. Pediat.*, 1947, 30:706.
DODD, K. *J. Pediat.*, 1947, 30:700.
FRANT, S., and ABRAMSON, H. Brennemann's *Practice of Pediatrics*, Vol. I, Chapter 28, W. F. Prior Co., 1945, page 22.
HIGH, R. H., ANDERSON, N. A., and NELSON, W. E. *J. Pediat.*, 1946, 28:407.
LIGHT, J. S., and HODES, H. L. *Am. J. Pub. Health*, 1943, 33:1451.
LYON, G. M., and FOLSOM, T. G. *Am. J. Dis. Child.*, 1941, 61:427.
SMILLIE, J. W., HOWITT, B. F., and DENISON, G. A. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1948, 63:233.
SOUTHER, S. P. *Ohio State Med. J.*, 1943, 39:30.

CAPITULO LIX

EL GRUPO DE VIRUS PSITACOSIS-LINFOGRANULOMA

Excepto el virus causal de la meningoneumonitis, los que pertenecen a este grupo son muy similares en tamaño, requerimientos culturales y estructura antigénica (Beeson y Miller, 1944). Por ultrafiltración miden de 150 a 300 mμ (Kurotchkin y col., 1947). Si bien son algo menores que las rickettsias, cuando se tiñen por métodos especiales son bastante grandes para ser vistos con el microscopio ordinario. Algunos, si no todos, tienen un ciclo de desarrollo análogo al de los organismos de la pleuroneumonía o pleuroneumonoides. Los cuerpos elementales del virus penetran en el citoplasma de la célula; allí aparecen masas globoides que pueden tener varias micras de diámetro. Con técnicas de tinción especiales se puede demostrar la presencia en tales masas de cuerpos elementales. Se parecen a las bacterias por su susceptibilidad a la glicerina; en algunos casos, su poder patógeno se reduce por las sulfonamidas.

Todos los virus del grupo se pueden desarrollar en huevo de gallina embrionado (Smadel y col., 1943) y producen neumonitis en el ratón por inoculación intranasal.

La presencia de antígenos comunes se puede demostrar por reacciones de fijación de complemento (Eaton y Corey, 1942), pero se pueden descubrir diferencias antigénicas por pruebas de neutralización (Hilleman, 1945).

El linfogranuloma venéreo, el tracoma, la conjuntivitis por cuerpos de inclusión y, posiblemente, la neumonitis humana, son virosis específicas del hombre. Las ornitosis, incluyendo la psitacosis, son enfermedades primarias de las aves, pero muy contagiosas para el hombre. La meningoneumonitis de los hurones, la neumonitis del ratón y la neumonía de los felinos sólo son infecciosas para los animales.

Algunos de estos virus, en particular los del linfogranuloma venéreo y ornitosis, cada día están más diseminados y plantean constantemente nuevos problemas de medicina preventiva.

ORNITOSIS-PSITACOSIS

Aunque el virus de la psitacosis fué descubierto originalmente en loros, pericos y otras aves psitácidas, ahora se sabe que las palomas, petreles, aves domésticas y otras alojan el virus (Pollard, 1947). Meyer y Eddie (1942) han propuesto aplicar el término más amplio de ornitosis a todas las infecciones con virus de psitacosis, y reservar el término psitacosis para designar aquellas infecciones que ocurren en las aves de la familia de los psitácidos o que de ellas provienen.

Los primeros hallazgos clínicos y anatomopatológicos en la psitacosis fueron descritos por Ritter en 1879-80. Nocard, en 1893, aisló una bacteria a la cual llamó *Bacillus psittacosis*, de la medula ósea de loros enfermos; si bien se identificó más tarde este organismo como *Salmonella paratyphi*, se pensó que era la causa de la enfermedad hasta 1929, cuando ocurrieron brotes epidémicos ampliamente distribuídos en Estados Unidos, Inglaterra y Europa. Estas epidemias estimularon la investigación con técnicas modernas (Armstrong, 1930). Sólo en Estados Unidos hubo

169 casos con 33 muertos, que ocurrieron en 74 focos. Pronto se comprobó que un virus era la causa de la psitacosis y el trabajo posterior lo confirmó ampliamente (Bedson y col., 1930; Krumwiede y col., 1930; Armstrong y McCoy, 1930).

Morfología y tinción. Los cuerpos elementales relativamente grandes de la psitacosis, que miden 200 a 300 mμ, se pueden sedimentar por centrifugación a 5 000 r.p.m. durante dos horas. Tales cuerpos pasan a través de membranas de gradocol que tengan poros de 0,6 μ como tamaño medio, pero son retenidos por filtros Seitz EK, Berkefeld N y Chamberland L-2. Se tiñen en rojo o rosado; los organismos virósicos se ven como pequeñas formas cocoides o bacilares, aisladas o en pares.

Los cuerpos, al igual que las bacterias, parecen multiplicarse por fisión, pero también se ha observado un ciclo de evolución más complejo que tiene lugar en el citoplasma de las células infectadas. Los cuerpos elementales aumentan de dos a cuatro veces su tamaño original, se multiplican por fisión continua y aparece una matriz que puede ser producto del virus, de la célula huésped o de ambos. El proceso continúa hasta que se forma un cuerpo globoide de varias micras de diámetro. Con técnicas de tinción adecuadas se pueden demostrar cientos de cuerpos elementales dentro de esta matriz. El cuerpo globoide acaba por romperse y suelta su contenido de cuerpos elementales que son infecciosos para otras células. El ciclo total se completa, por lo general, en 48 a 72 horas. De tiempo en tiempo se han descrito variaciones pequeñas de este ciclo evolutivo (Yanamura y Meyer, 1941).

Cultivo. El virus se desarrolla en cultivos de tejidos y en huevos de gallina embrionados (Burnet y Roundtree, 1935; MacCallum, 1936). En el último caso se obtiene mejor desarrollo en el saco vitelino que en la membrana corioalantoidea.

Resistencia. El virus no resiste la acción de la glicerina. No se destruye por congelación; ciertos datos epidemiológicos hacen pensar que puede sobrevivir a la desecación.

Estructura antigénica. Las cepas de virus de las aves de la familia de los psitácidos parecen ser homogéneas, pero las representativas de ornitosis de otras aves difieren algo en su poder patógeno para los animales de experimentación. También son muy diferentes desde el punto de vista antigénico cuando se estudian por pruebas de neutralización (Hilleman, 1945).

Las reacciones de fijación de complemento se pueden encontrar positivas muy pronto, al duodécimo día de la enfermedad; pero debe recordarse que la reacción de fijación del complemento es menos específica, sólo diagnóstica del grupo, pues se puede obtener reacción positiva en pacientes con linfogranuloma venéreo.

Infección espontánea en las aves. La psitacosis ocurre espontáneamente en los psitácidos de Australia y Sudamérica. En 1938 se descubrió que los petreles de las islas Faroe estaban infectados con ornitosis (Haagen y Mauer, 1938). Canarios, palomas, pollos (Meyer y Eddie, 1942), aves costeras (Pollard, 1947) y posiblemente pavos y patos alojan también este virus.

En los loros, la enfermedad espontánea se caracteriza por apatía, escalofríos, debilidad, diarrea y síntomas respiratorios. En la necropsia se encuentran múltiples zonas de necrosis en hígado y bazo; en ocasiones, los pulmones también están afectados. El virus se ha obtenido de los órganos internos, secreción nasal, sangre y heces (Rivers y col., 1931).

Infección experimental en animales de laboratorio. Los loros son muy sensibles a la infección experimental con materiales obtenidos del hombre o de aves, cuando se introducen por vía bucal, nasal o intramuscular. Sin embargo, no se deben utilizar los loros para estudios diagnósticos por la facilidad con que el virus

difunde desde los loros infectados a los trabajadores del laboratorio. Rivers y Berry (1935) descubrieron que el ratón es un animal de experimentación relativamente innocuo que puede infectarse por vía intranasal o intraperitoneal. A continuación se describe en detalle el método de estos autores para utilizar ratones blancos.

El esputo del paciente, al cual se añaden 20 a 50 volúmenes de caldo de infusión de carne (pH 7,8) y una pequeña cantidad de alundum, se tritura en un mortero. La emulsión se centrifuga durante diez minutos a 3 000 r.p.m. El líquido que sobrenada se filtra por bujía Berkefeld V a una presión de 15 a 30 cm de mercurio. Cada uno de los seis ratones recibe intraperitonealmente 2 c.c. del filtrado, en tres días sucesivos. Los animales se conservan en frascos de vidrio con tapa, colocados en recipientes de escasa profundidad llenos de solución de lisol al 5 por ciento para evitar la diseminación de la infección por insectos. Los animales se observan durante 30 días. Rivers ha observado que se puede utilizar el esputo sin filtrar si no contiene estreptococos ni neumococos. A las muestras contaminadas se les puede añadir antibióticos.

Si un paciente muere sin que se haya establecido el diagnóstico y si en la autopsia se sospecha psitacosis, en muchos casos se puede confirmar inyectando filtrados de pulmón, hígado y bazo al ratón, de manera similar a la descrita.

Los criterios por los cuales se establece la existencia de psitacosis en los animales inoculados son: 1) la aparición en todos o algunos de los animales de una enfermedad que suele matarlos en 10 a 14 días (en ocasiones, 30 días); 2) el cuadro anatomopatológico característico de lesiones necróticas focales en hígado y bazo; 3) la ausencia de infección bacteriana ordinaria, comprobada por cultivos al tiempo de la necropsia; 4) la presencia, en los frotis por impresión de hígado y bazo, de los "cuerpos diminutos" de la psitacosis; 5) la demostración de pasos en serie del virus en ratones, por medio de emulsiones de hígado y bazo de los animales que reciben los filtrados, y 6) la demostración de que los ratones que han vivido 30 días después de la inoculación de los filtrados son inmunes a una cepa potente de virus de psitacosis. Por razones obvias, no es necesario que se llenen en cada caso todas estas condiciones.

Tipos clínicos de infección en el hombre. El cuadro clásico de la psitacosis u ornitosis en el hombre se caracteriza por comienzo brusco con escalofríos, fiebre, cefalea, dolor de espalda y postración. La tos, al principio, no va acompañada de expectoración, pero al avanzar la enfermedad se producen esputos mucoides. El número de leucocitos es normal o bajo. Como sucede con muchas otras enfermedades por virus, las sombras radiológicas muestran alteraciones mucho mayores que las que se deducirían de los signos físicos. El diagnóstico se puede sospechar por el antecedentes de contacto con aves o sus excretas, pero solamente se puede establecer aislando el virus o demostrando anticuerpos protectores en el suero del convaleciente. El virus se puede aislar de la sangre o esputo por inoculación de ratones o por cultivo en huevo de gallina embrionado.

Transmisión. En casos raros se ha extendido la enfermedad de hombre a hombre (McCoy, 1930). En la mayor parte, es posible establecer la existencia de un contacto directo o indirecto con aves. No es necesario que éstas estén enfermas para transmitir la enfermedad; se ha demostrado que pueden ser infectantes intermitentemente durante largos períodos de tiempo, pero es evidente que las posibilidades de infección son mucho mayores si se manejan aves enfermas. En su huésped aviario natural, el virus de la ornitosis es casi tan infeccioso como el del sarampión o el de la viruela. El virus difunde en el aire por las heces o por gotitas de las vías respiratorias (McCoy, 1930).

Tratamiento. La ornitosis adquirida por contacto con los psitácidos, particularmente loros, es una enfermedad muy grave; la mortalidad es de 20 a 30 por ciento. En la enfermedad adquirida de otras aves la mortalidad es más baja. Se han referido mejorías clínicas con la administración de sulfonamidas; publicaciones preliminares indican que la penicilina puede ser aún más eficaz que aquéllas.

Prevención. Aunque en Estados Unidos la importación de psitácidos está regulada por leyes de cuarentena federales, es muy difícil descubrir al portador crónico del virus. En consecuencia, deben desaconsejarse estas aves como adornos del hogar.

Si bien la transmisión de hombre a hombre es rara, los pacientes con ornitosis deben ser aislados durante la fase aguda de la enfermedad y por tanto tiempo como dure la expectoración. Los asistentes deben usar mascarilla y todas las secreciones de nariz y garganta del paciente deben desinfectarse en seguida. Aunque no hay regulaciones de cuarentena, la habitación del enfermo debe limpiarse y airearse perfectamente después de sacar al paciente.

Se ha logrado la inmunización activa en monos por inyección intramuscular de cepas virulentas del virus. Aparecieron anticuerpos neutralizantes en el suero de los animales y se comprobó que éstos eran resistentes a la infección cuando se introducía el virus por vías respiratorias (Rivers y Schwentker, 1934). Se ha logrado inmunizar ratones con vacunas inactivadas por luz ultravioleta (Francis y col., 1947). En algunas ocasiones se ha inmunizado al personal de laboratorio por el mismo método.

LINFOGRANULOMA VENEREO

Linfogranuloma inguinal, enfermedad de Durand-Nicolas-Favre, bubón climático, estiómeno, paradenitis

Durante el siglo dieciocho aparecieron de tiempo en tiempo referencias vagas de una enfermedad venérea conocida como bubón tropical. La primera descripción precisa fué publicada por Durand, Nicolas y Favre en 1913. En la actualidad, la enfermedad se ha reconocido en muchos países del mundo y hay datos que permiten sospechar que cada día es más frecuente (Howard y Strauss, 1935). La enfermedad es más común entre los negros que entre los blancos, y se encuentra, o por lo menos se reconoce, con mayor frecuencia en los varones que en las mujeres.

La descripción de la enfermedad que hizo Durand fué seguida por las de Phylactos (1922), Frei (1925) y Hellerström (1929). Frei introdujo su prueba cutánea diagnóstica en 1925; Hellerström y Wassen, en 1930, transmitieron la enfermedad a monos por inoculación intracerebral y Levaditi (1932) produjo la infección en ratones por la misma vía. Rake y colaboradores (1940) lograron cultivar el virus en el saco vitelino de huevos de gallina embrionados.

Morfología y tinción. Gamma (1923-24) y Favre (1924) observaron cuerpos de inclusión intracitoplásmicos en células mononucleares de los ganglios linfáticos correspondientes a tejidos infectados. Algunos de los cuerpos de inclusión son basófilos en la periferia, pero en el centro tienen material acidófilo. En las células cerebrales de ratones recién infectados se encuentran cuerpos irregulares que toman color azulado con la tinción de Giemsa. Los cuerpos elementales del virus del linfogranuloma tienen de 125 a 175 mμ; se les conoce como gránulocorpúsculos de Miyagawa (1935). Cuando se tiñen por el método de Giemsa los cuerpos elementales toman color azulado y los corpúsculos intermediarios color rojo (Findlay y col., 1938).

Cultivo. Rake y Jones (1944) han estudiado el ciclo evolutivo del virus; estos autores siguieron el desarrollo en el saco vitelino de los huevos embrionados. El ciclo reproductivo no es diferente del de los virus de las ornitosis.

Resistencia. Este organismo se destruye fácilmente a 56° C.; es inactivado por el fenol, glicerina, urea, formaldehido, luz ultravioleta y éter, pero se puede conservar en estado de congelación a —70° C. durante largo tiempo.

Metabolitos del virus. En 1944, Rake y sus colaboradores comunicaron la presencia de una endotoxina lábil en los cultivos de virus del linfogranuloma venéreo. Por inmunización de conejos se obtuvo una antitoxina específica. Se pudo producir una antitoxina similar, si no idéntica, contra los virus relacionados de la meningoneumonitis, neumonitis del ratón y neumonitis de los felinos (Rake y Jones, 1944).

Estructura antigénica. Los resultados obtenidos en pruebas de neutralización del suero (Rodaniche, 1940), usando cepas aisladas del virus, y la uniformidad de las reacciones obtenidas por la aplicación casi universal de la cutirreacción de Frei sugieren que hay un solo tipo antigénico de virus del linfogranuloma venéreo. Sin embargo, el virus puede contener también ciertos antígenos comunes adicionales que expliquen las reacciones cruzadas de fijación del complemento obtenidas con otros virus del grupo ornitósico (Beeson y Miller, 1944).

Infección experimental en animales de laboratorio. La inyección intracerebral de material infectado o de cultivos en monos y ratones produce meningoencefalitis (Hellerström y Wassen, 1931). Ocasionalmente se ha observado la aparición de lesiones papulares que contienen el virus después de inoculaciones intracutáneas o subcutáneas.

Tipos clínicos de infección en el hombre. La enfermedad se transmite usualmente por contacto genital, pero el virus puede penetrar en el organismo por la boca o por las conjuntivas. En general, no se aprecia la importancia de tales infecciones extragenitales. El *período de incubación* es de 7 a 12 días; la lesión primaria, una pequeña pápula indolora de la región genital, va seguida por aumento de volumen de uno o más ganglios linfáticos de la ingle, llamados *bubones* (Greenblatt, 1943). Estos bubones pueden supurar, pero por lo general persisten durante meses, a menos que se instituya un tratamiento adecuado. Además de la adenitis, son complicaciones comunes en la mujer la elefantiasis de la vulva y la estrechez de la ampolla rectal. En ocasiones se han observado infecciones de la garganta y otras partes del cuerpo (van Rooyen y Rhodes, 1940; Zarafonetis, 1944). El paciente es contagioso mientras persiste el exudado. Al parecer, un ataque produce inmunidad de por vida; no se han observado reinfecciones.

Durante muchos años se ha sabido que el dolor de cabeza es un síntoma común en las infecciones por linfogranuloma venéreo, pero su significación no ha sido reconocida hasta que en 1936 Von Haam y D'Aunoy aislaron el virus del líquido cefalorraquídeo de dos pacientes con enfermedad aguda y aparecieron otras publicaciones de meningoencefalitis como complicación del linfogranuloma venéreo (Rajam, 1936; Sabin y Aring, 1942; Zarafonetis, 1944; Beeson y col., 1946). Estos y otros estudios han demostrado el neurotropismo del virus y han afirmado la idea de que esta infección es producida por un virus.

La reacción de fijación del complemento se hace positiva entre los días décimo y vigésimo primero de la infección; aparece algo más pronto que la reacción de Frei (Rake y col., 1941).

Reacción de Frei. Se puede producir una reacción de Frei positiva por inyección intracutánea del pus estéril de un bubón, de una emulsión de cerebro de ratón infectado (Grace y Suskind, 1934) o de una suspensión del cultivo del virus en el

saco vitelino del embrión de pollo. La reacción es positiva en 24 a 48 horas y persiste durante 4 a 8 días. Cuando se produce hipersensibilidad para este antígeno, parece persistir durante toda la vida. Por lo tanto, una reacción de Frei positiva se interpreta al igual que una reacción positiva a la tuberculina, por cuanto no diferencia entre una infección activa y una infección que ha curado desde muchos años.

Productos biológicos. El antígeno de Frei para las pruebas cutáneas se puede preparar esterilizando el pus aspirado de un bubón no abierto. En la actualidad, el material usado más comúnmente es el virus cultivado conocido con el nombre comercial de "Lygranum".

Tratamiento. MacCallum y Findlay (1938) demostraron el efecto beneficioso de las sulfonamidas en las infecciones experimentales en ratones. Desde entonces las sulfonamidas se han empleado en el tratamiento de las infecciones humanas, si bien es dudoso que el efecto sea dirigido directamente sobre el virus. La única medida preventiva es evitar la exposición. Se puede aconsejar el uso profiláctico de sulfonamidas.

BIBLIOGRAFIA

Ornitosis-Psitacosis

Armstrong, C. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1930, 45:2013.
——— and McCoy, G. W. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1930, 45:735.
Bedson, S. P. *Brit. J. Exper. Path.*, 1933, 14:162.
——— and Bland, J. O. W. *Brit. J. Exper. Path.*, 1932, 13:461; 1934, 15:243.
——— and May, H. B. *Lancet*, 1945, 2:394.
———, Western, G. T., and Simpson, S. L. *Lancet*, 1930, 1:235, 345.
Beeson, P. B., and Miller, E. S. *Am. J. Pub. Health*, 1944, 34:1076.
Burnet, F. M., and Roundtree, P. M. *J. Path. & Bacteriol.*, 1935, 40:471.
Eaton, M. D., and Corey, M. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1942, 51:165.
Flippin, H. F., Gaydosh, M. J., and Fittipoldi, W. V. *J.A.M.A.*, 1945, 128:280.
Francis, R. D., Milzer, A., and Gordon, F. B. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1947, 66:184.
Haagen, E., and Mauer, G. *Zbl. f. Bakteriol.*, 1938, 143:81.
Hilleman, M. R. *J. Infect. Dis.*, 1945, 76:96.
Krumwiede, C., McGrath, M., and Oldenbusch, C. *Science*, 1930, 71:262.
Kurotchkin, T. J., Libby, R. L., Gagnon, E., and Cox, H. R. *J. Immunol.*, 1947, 55:283.
MacCallum, F. O. *Brit. J. Exper. Path.*, 1936, 17:472.
McCoy, G. W. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1930, 45:843.
Meyer, K. F., Eddie, B., and Yanamura, H. Y. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1942, 49:609.
Pollard, M. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1947, 64:200.
Ritter, J. *Deutsche Arch. Klin. Med.*, 1879-80, 25:53.
Rivers, T. M., Berry, G. P., and Sprunt, D. H. *J. Exper. M.*, 1931, 54:91.
——— and Schwentker, F. F. *J. Exper. M.*, 1934, 60:211.
——— and Berry, G. P. *J. Exper. M.*, 1935, 61:205.
Smadel, J. E., Wertman, K., and Reagan, R. L. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1943, 54:70.
Yanamura, H. Y., and Meyer, K. F. *J. Infect. Dis.*, 1941, 68:1.

Linfogranuloma venéreo

Beeson, P. B., Wall, M. J., Heyman, A. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1946, 62:306.
——— and Miller, E. S. *Am. J. Pub. Health*, 1944, 34:1076.
Durand, M., Nicolas, J., and Favre, M. *Bull. et Mem. Soc. Méd. des Hôp. de Paris*, 1913, 35:274.
Favre, M. *Presse Méd.*, 1924, 2:651.
Findlay, G. M., Mackenzie, R. D., and MacCallum, F. O. *Nature*, 1938, 141:877.
Frei, W. *Klin. Wchnschr.*, 1925, 4:2148.
Gamma, C. *Arch. Sc. Méd.*, 1923, 46:31.
——— *Presse Méd.*, 1924, 2:2041.
Grace, A. W., and Suskind, F. H. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1934, 32:71.
Greenblatt, R. B. Pub. Health Service, *Ven. Dis. Info.*, Supp. 19, 1943, 1:43.
Hellerström, S. *Acta dermat.-venereol.*, Supp. 1, p. 5, 1929.
——— and Wassén, E. *Compt. rend. Soc. de biol.*, 1931, 106:802.
Howard, M. E., and Strauss, M. J. *New Eng. J. Med.*, 1935, 212:323.
Levaditi, C., Ravault, P., Lépine, P., and Schoen, R. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1933, 48:27.

MIYAGAWA, Y., MITAMURA, T., YAOI, H., ISHII, N., and OKANISHI, J. *Japanese J. Exper. M.*, 1935, 13:733.
PHYLACTOS, A. *Lymphogranulomatose des ganglions inguinaux.* Ville franche, 1922.
RAJAM, R. V. *Brit. J. Ven. Dis.*, 1936, 12:237.
RAKE, G., MCKEE, C. M., and SHAFFER, M. F. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1940, 43:332.
———, SHAFFER, M. F., GRACE, A. W., MCKEE, C. M., and JONES, H. P. *Am. J. Syph., Gonor., & Ven. Dis.*, 1941, 25:687.
——— and JONES, H. P. *J. Exper. M.*, 1942, 75:323; 1944, 79:463.
MACCALLUM, F. O., and FINDLAY, G. M. *Lancet*, 1938, 2:136.
RODANICHE, E. C. *J. Infect. Dis.*, 1940, 66:144.
SABIN, A. B., and ARING, C. D. *J.A.M.A.*, 1942, 120:1376.
VAN ROOYEN, C. E., and RHODES, A. J. *Virus Diseases of Men.* Oxford Univ. Press, London, 1940, p. 176.
VON HAAM, E., and D'AUNOY, R. *J.A.M.A.*, 1936, 106:1642.
ZARAFONETIS, C. J. D. *New Eng. J. Med.*, 1944, 230:567.

CAPITULO LX

VIROSIS DEL HOMBRE CARACTERIZADAS POR CONJUNTIVITIS

TRACOMA

Conjuntivitis granulosa

El tracoma es un tipo específico de conjuntivitis granulosa crónica caracterizado por infiltración linfocítica del tejido subepitelial con producción de nódulos que pueden hacerse necróticos (Bland, 1944). En el curso de la enfermedad la córnea se enturbia y los párpados se retraen hacia dentro por las cicatrices que se forman en sus superficies internas. La ceguera total o parcial no es infrecuente; por lo tanto, esta enfermedad debe merecer gran atención de los servicios de sanidad pública.

La enfermedad se ha reconocido desde muchos siglos en el Medio Oriente; en la actualidad se observa en todo el mundo. No es común en los Estados Unidos, pero ocurre en ciertas zonas localizadas del oeste de Virginia, Kentucky, este de Tennessee, Missouri, Arkansas y Oklahoma. Es endémica en algunas tribus de indios americanos (Mossman, 1931; Julianelle, 1938).

El tracoma es transmisible por contacto directo de persona a persona, pero no es muy contagioso; las precauciones ordinarias de higiene impedirán su transmisión a enfermeras, asistentes y médicos. No obstante, son obligatorias las regulaciones de cuarentena estricta para impedir la admisión de inmigrantes con tracoma en Estados Unidos.

Se han aislado muchos tipos de bacterias de los ojos de tracomatosos y también de casos de conjuntivitis folicular que ciertamente no eran de tracoma. En 1928. Noguchi encontró un pequeño bacilo gramnegativo ligeramente móvil, *Noguchia granulosis (Bacterium granulosis)*, de casos de tracoma de indios americanos de la región de Albuquerque, Nuevo México. Si bien se pudo producir en monos una conjuntivitis folicular con este organismo, no hay pruebas convincentes de que sea la causa primaria del tracoma.

En 1907, Halberstädter y von Prowazek refirieron la presencia de inclusiones celulares en los tejidos de pacientes con tracoma. Dentro de estos cuerpos de inclusión se han encontrado corpúsculos elementales, que probablemente son el virus. Thygeson (1933) y Julianelle y Harrison (1935) han producido tracoma en monos con filtrados libres de bacterias. El agente infectante ha sido mantenido en animales por paso testicular y se ha producido la enfermedad con este virus después de los pasos. Sin embargo, en la enfermedad producida experimentalmente no se han encontrado los cuerpos de inclusión característicos. En la enfermedad espontánea son similares a los encontrados en los niños con blenorrea por corpúsculos de inclusión. En ambos casos los cuerpos de inclusión dan positivas las reacciones del glucógeno; los sueros de los pacientes pueden fijar el complemento con un antígeno preparado de virus de linfogranuloma venéreo, lo cual sugiere que estos virus estén relacionados con los del grupo psitacosis-linfogranuloma. Los resultados favorables que han seguido a la terapéutica por sulfonamidas se pueden interpretar como efecto de la

droga sobre la infección secundaria asociada o como acción directa sobre el virus mismo (Thygeson, 1945).

Ciertamente, la pobreza y las carencias alimenticias pueden contribuir a la gravedad de la enfermedad (Bernasconi, 1941, 1943); por tanto, el tratamiento en período agudo de la enfermedad debe ser dietético y con sulfonamidas. En períodos más avanzados está indicada la cirugía plástica (Pines, 1947). Para una revisión detallada de esta cuestión aconsejamos al lector consultar la publicación hecha por Julianelle en 1938.

BLENORREA POR CUERPOS DE INCLUSION

Esta enfermedad de los recién nacidos se caracteriza por una conjuntivitis aguda leve que suele afectar los párpados inferiores (Julianelle, 1938). Esta infección, que suele empezar entre el quinto y el décimo día después del nacimiento, no es muy contagiosa y tiene curso prolongado, aunque benigno.

Linder, en 1911, mientras trabajaba sobre oftalmía gonorreica, denominó a la entidad "blenorrea por cuerpos de inclusión", por la presencia de cuerpos itoplásmicos de inclusión en las células epiteliales obtenidas de la conjuntiva. Estos corpúsculos de inclusión, que morfológicamente no pueden distinguirse de los del tracoma, miden alrededor de 250 mμ y dan reacción positiva de glucógeno. Los sueros de los pacientes fijan el complemento empleando antígeno preparado con virus de linfogranuloma venéreo (Rake y col., 1942).

QUERATOCONJUNTIVITIS EPIDEMICA

Conjuntivitis de los astilleros, ojo rosado, ojo rosado hawaiano, conjuntivitis infecciosa epidémica

Esta enfermedad asumió un papel importante en los primeros años de la segunda Guerra Mundial cuando atacó a gran número de trabajadores de los astilleros de Hawai y California. Desde entonces, la frecuencia de la infección ha decrecido netamente. En ausencia de epidemia es difícil para el médico establecer un diagnóstico preciso, ya que hay que diferenciar esta conjuntivitis de la producida por otros agentes. La enfermedad fué descrita primero por Fuchs (1889); en 1920 se registró con carácter epidémico en la India. Las publicaciones posteriores sobre esta infección aparecieron en Europa en 1932 y 1933, Estados Unidos (Hobson, 1938), Alemania (Smitmans, 1940), Hawai (Holmes, 1941) y Estados Unidos (Saunders, 1942; Rieke, 1942; Molner, 1944).

Cultivo. Saunders y Alexander (1943) aislaron el virus de los raspados conjuntivales de pacientes y obtuvieron desarrollo en cultivos de tejidos. El virus fué adaptado al ratón y posteriormente cultivado en el huevo embrionado (Calkins y Bond, 1944). El tamaño del virus, estimado por filtración a través de membranas de gradocol, sería de 25 a 50 mμ.

Resistencia. El virus se inactiva por el azul metileno en presencia de la luz y se puede conservar en glicerina al 50 por ciento y en estado de congelación a —70° C.

Estructura antigénica. Hay ciertos antígenos comunes contenidos en las diversas cepas; la mayor parte de sueros de convalecientes, si se toman cuatro semanas o más después del comienzo de la enfermedad, suelen neutralizar las cepas aisladas (Korns y col., 1944). El virus de esta enfermedad y el herpes simple están relacionados inmunológicamente (Maumenee y col., 1945).

Infección experimental en animales de laboratorio. La inoculación intranasal o intracerebral de ratones adultos les produce, en dos a siete días, convulsiones crónicas, seguidas de muerte en 24 horas. Los ratones jóvenes se pueden también infectar por inyección intraperitoneal del virus. El examen microscópico revela la presencia de meningoencefalitis. Los conejos desarrollan encefalitis después de la inoculación intracerebral, pero los cobayos y las ratas son resistentes a la infección. Los conejos inoculados en la córnea con virus desarrollan queratitis; con frecuencia se pueden demostrar cuerpos de inclusión intranuclear en el epitelio corneal (Maumenee y col., 1945).

Se ha producido la enfermedad clínica característica en voluntarios humanos por introducción en el ojo de raspados conjuntivales o del virus pasado por el ratón. Las infecciones experimentales fueron seguidas de aparición de anticuerpos neutralizantes en el suero del sujeto cuatro semanas después del comienzo de la enfermedad.

Tipos clínicos de infección en el hombre. Se desconoce cuál sea el *período de incubación natural*, pero se cree de 5 a 7 días; alrededor de 5 por ciento de las personas expuestas desarrollaron la enfermedad (Perkins y col., 1943).

La infección suele comenzar en un ojo y se caracteriza por enrojecimiento e inflamación de la conjuntiva, con secreción seromucosa libre de bacterias. En ocasiones hay catarro nasal que puede ir acompañado de síntomas generales leves. El ganglio linfático preauricular del lado afectado suele estar abultado y doloroso. En los casos no complicados la enfermedad dura de dos a cuatro semanas y va seguida de restablecimiento completo; en ocasiones puede haber opacidades corneales residuales con algún trastorno visual.

Transmisión. Al parecer el hombre es el único huésped que se llega a infectar con este virus en condiciones naturales. La enfermedad no está limitada a los trabajadores de los astilleros, sino que ocurre en muchas fábricas industriales, especialmente en varones ocupados en trabajos de fundición, soldadura y trituración (Perkins y col., 1943). También hay gran proporción de atacados entre el personal médico que atiende los dispensarios industriales de primeros auxilios. Debe mantenerse el cuidado máximo en el manejo de los vendajes contaminados y la esterilización de los instrumentos médicos.

Tratamiento. No hay terapéutica específica, si bien Braley y Sanders (1943) y Maumenee y col. (1945) han usado suero humano de convalecientes en aplicación local y general.

Prevención. Deben aislarse rígidamente los pacientes; tanto éstos como los asistentes deben ser instruídos acerca de la naturaleza contagiosa de la afección, prestando atención especial a la infecciosidad de los objetos manejados por el paciente. Tcdos los apósitos e intrumentos que tengan contacto con los ojos infectados del paciente deben esterilizarse con cuidado.

No se sabe cuánto tiempo persiste la inmunidad; se han publicado recidivas o reinfecciones.

BIBLIOGRAFIA

Tracoma

Bernasconi, E. M. Observaciones que contribuyen a la etiología del tracoma. 1st Congr. Provinc. med., Santiago del Estero, 1941.
——— Confirmando mis observaciones en el tratamiento del tracoma. *Ibid.*, 2nd Congr., 1943.
Bland, J. O. W. *J. Path. & Bacteriol.*, 1944, 56:161.
Bodian, M. *Am. J. Ophthal.*, 1947, 30:758.
Halberstädter, L., and von Prowazek, S. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1907, 33:1285.
Julianelle, L. A. *The Etiology of Trachoma.* Commonwealth Fund., New York, 1938.
——— and Harrison, R. W. *Am. J. Ophthal.*, 1935, 18:133.

Mossman, P. D. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1931, 48:2940.
Noguchi, H. *J. Exper. M.*, 1928, 48: Supplement Nº 2, p. 1.
Pines, N. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 1947, 40:129.
Thygeson, P. *Am. J. Ophthal.*, 1933, 16:409.
——— *Mil. Surgeon*, 1945, 97:355.

Blenorrea por cuerpos de inclusión

Linder, K. V. *Graefes Arch. Ophtal.*, 1911, 78:345.
Julianelle, L. A. *The Etiology of Trachoma.* The Commonwealth Fund. New York, 1938.
Rake, G., Schaffer, M. F., and Thygeson, P. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1942, 49:545.

Queratoconjuntivitis epidémica

Braley, A. E., and Sanders, M. *J.A.M.A.*, 1943, 121:999.
Calkins, H. E., and Bond, G. C. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1944, 56:46.
Fuchs, E. *Wien. klin. Wchnschr.*, 1889, 2:837.
Hobson, L. C. *Am. J. Ophth.*, 1938, 21:1153.
Holmes, W. J. *Hawaiian Med. J.*, 1941, 1:11.
Korns, R. F., Sanders, M., and Alexander, R. C. *Am. J. Pub. Health*, 1944, 34:567.
Maumenee, A. E., Hayes, G. S., and Hartman, T. L. *Am. J. Ophth.*, 1945, 28:823.
Molner, J. G., and Cooper, E. L. *Am. J. Pub. Health*, 1944, 34:572.
Perkins, J. E., Korns, R. F., and Westphal, R. S. *Am. J. Pub. Health*, 1943, 33:1187.
Rieke, F. E. *J.A.M.A.*, 1942, 119:942.
Saunders, M. *Arch. Ophth.*, 1942, 28:581.
——— and Alexander, R. C. *J. Exper. M.*, 1943, 77:71.
———, Gulliver, F. D., Forchheimer, L. L., and Alexander, R. C. *J.A.M.A.*, 1943, 121:250.
Smitmans. *Reichsgesundheitsblatt*, 1940, 15:121.

CAPITULO LXI

VIROSIS DEL HOMBRE CARACTERIZADAS POR SINTOMAS NEUROLOGICOS

Las virosis que afectan al sistema nervioso plantean un difícil problema al médico porque, con excepción de la rabia y la poliomielitis, ninguna es bastante característica para que pueda diferenciarse etiológicamente por la clínica ni por el estudio histopatológico del tejido afectado. Los datos clínicos y epidemiológicos sirven de ayuda, pero el diagnóstico preciso sólo puede establecerse por aislamiento del virus o demostrando la existencia de anticuerpos específicos en suero.

En algunos casos, el virus se puede aislar, durante la fase aguda de la enfermedad, del suero, el líquido cefalorraquídeo o los tejidos cerebrales. Las muestras de suero o líquido cefalorraquídeo deben obtenerse en condiciones asépticas y congelarse inmediatamente. Las porciones seleccionadas del cerebro se pueden congelar o preservar sin congelación en glicerina al 50 por ciento adicionada de un tampón.

Los sueros para estudios inmunológicos no necesitan congelación. Deben recogerse tres muestras: 1) en la fase aguda; 2) al principio de la convalecencia; 3) después del restablecimiento completo. Tales sueros se examinan para investigar anticuerpos específicos neutralizantes o fijadores del complemento.

En la tabla de las páginas 758 y 759 se indican datos epidemiológicos y técnicos de laboratorio pertinentes para ayudar al análisis en el diagnóstico de estas enfermedades neurotrópicas.

POLIOMIELITIS
Parálisis infantil

Durante los últimos 50 años la poliomielitis ha cambiado de enfermedad de la infancia, que se caracterizaba por ser esporádica, a proceso que ataca a los grupos de mayor edad, con frecuencia en forma epidémica. Desde 1918 han ocurrido en Estados Unidos diversas epidemias de importancia (Report, 1932; Sabin, 1947). El período comprendido entre 1943 y 1946 fué el de mayor frecuencia de la enfermedad en la historia de ese país (Editorial, 1948; Statistical Bulletin, 1947); resulta sorprendente que durante ese mismo período en otras partes del mundo no se conocían epidemias de poliomielitis (Sabin, 1947). Antiguamente, la mayor frecuencia de parálisis ocurría en los niños menores de cinco años de edad; en la actualidad esta complicación es más frecuente en niños mayores. La poliomielitis causa casi el 20 por ciento de todas las incapacidades ortopédicas en menores de 21 años (Editorial, 1948) y representa un peligro para la salud pública, no sólo por sus manifestaciones paralíticas, sino también por cuanto se supone que es transmitida por alimentos, moscas y líquidos de alcantarillas.

Durante muchos años se ha considerado la poliomielitis como enfermedad infecciosa aguda, tanto por sus manifestaciones clínicas como por presentarse a veces en forma epidémica. Por tales razones se la clasificó por Marie y por Strümpell con

las enfermedades infecciosas agudas mucho antes que se obtuviera prueba experimental alguna de la infección. El estudio moderno de la enfermedad data de 1840, cuando Heine publicó su notable monografía sobre parálisis fláccidas de las extremidades inferiores en los niños. En 1887, Medin publicó las observaciones que hizo en ocasión de un brote epidémico de la enfermedad en Estocolmo; describió muchos casos del tipo paralítico febril. Las observaciones cuidadosas de Wickman, hechas sobre más de un millar de casos, en la epidemia de Suecia de 1905, enseñaron que la poliomielitis, o *enfermedad de Heine-Medin,* como la denominó Wickman, era contagiosa.

En 1909, Landsteiner y Popper reprodujeron la enfermedad en monos *(Cynocephalus hamadryas* y *Macacus rhesus)* por inoculación intraperitoneal de los animales con emulsión salina de medula espinal de un niño que había muerto al cuarto día de la enfermedad durante el período febril agudo. Los mismos resultados agudos se obtuvieron independientemente por Knoepfelmacher (1909), Flexner y Lewis (1909) y Strauss y Huntoon (1910).

Flexner y Lewis (1909) lograron transmitir la enfermedad de mono a mono y demostraron que la infección se podía reproducir en este animal por inoculación intraperitoneal, subcutánea, intravenosa o intraneural. También probaron que durante los primeros días después de la inoculación de los animales, el virus se encontraba en el líquido cefalorraquídeo, sangre, mucosa nasofaríngea, ganglios linfáticos, cerebro y medula. Fundándose en este trabajo se sostuvo durante muchos años que la enfermedad se diseminaba por gotitas nasofaríngeas y que el virus penetraba por los nervios olfatorios y proseguía hasta las células cerebrales anteriores por vía de los cilindroejes y del cerebro. Bodian y Howe (1941) y otros autores presentaron pruebas experimentales adicionales que apoyaban esta hipótesis. Faltan, sin embargo, pruebas convincentes que demuestren esta vía nasal de infección para el hombre (Bodian y Howe, 1941), si bien el virus se puede encontrar en la faringe bucal, contenido intestinal y heces (Sabin y Ward, 1941; Kessel y col., 1941; Langmuir, 1942). Sabin y Ward (1941) comunicaron que el virus no se encontraba en la mucosa nasal ni en las glándulas salivales. Los mismos investigadores encontraron que se invadían primariamente el tubo digestivo y el sistema nervioso, y que el virus del sistema nervioso provenía del conducto digestivo. El virus se puede demostrar en las evacuaciones de los pacientes y de personas en contacto con éstos (Langmuir, 1942; Pearson y Rendtorff, 1945) por períodos tan largos como 123 días (Lépine y col., 1939). Ward, Horstmann y Melnick (1946) obtuvieron el virus en el 70 por ciento de las evacuaciones de los pacientes durante las dos primeras semanas después del comienzo agudo de la enfermedad. El virus se encuentra en la medula espinal en los casos mortales, pero no se ha podido obtener del líquido cefalorraquídeo; Ward, Horstmann y Melnick (1946) y Koprowsky (1947) lo han encontrado en el suero de un caso humano.

Paul y col. (1941) y Sabin y Ward (1941) obtuvieron de las moscas el virus de la poliomielitis, y un año después Trask y Paul (1942) demostraron su presencia en las alcantarillas. Se demostró que los alimentos expuestos a las moscas en las casas de pacientes poliomielíticos podían producir la enfermedad en chimpancés (Ward y col., 1945); y Aycock (1941) registró una epidemia de poliomielitis transmitida por la leche. Si bien ha quedado establecido que la enfermedad es producida por un virus, muchos problemas relacionados con la poliomielitis están hoy tan lejos de solución como hace cien años.

Morfología. El virus de la poliomielitis es extremadamente pequeño. Theiler y Bauer (1934) consideraron su tamaño de 12 a 17 mμ, pero los experimentos de

Virus neurotrópicos

Virus	Reservorio	Transmisión	Edad	Ocurrencia estacional	Diagnóstico de laboratorio				
					Aislamiento		Serología *		
							Período de tiempo óptimo (días)		
					Muestra	Medios	AGR (1)	FC (2)	N (3)
Poliomielitis	Hombre	Gotitas, alimento, heces, moscas	Infancia	Verano, otoño	Heces, tejido del SNC	Mono			
Rabia	Animales domésticos o silvestres	Mordedura			Cerebro	Ratón			
Coriomeningitis linfocítica	Ratones	Contacto			Sangre, cerebro L.C.R.	Ratón, cobayo		7 a 21	21 a 42
Paperas	Hombre	Gotitas	Infancia	Invierno, primavera	Saliva, L.C.R.	Mono, huevo	3 a 21	5 a 21	
Herpes	Hombre	¿Contacto?	Niños, adultos		Cerebro, L.C.R.	Conejo, ratón, huevo			7 a 21
Linfogranuloma venéreo	Hombre	Contacto	Adultos		Cerebro, pus, L.C.R.	Ratón, huevo		7 a 21	
Encefalitis epidémica A de Von Economo	Desconocido	Desconocido	Niños, adultos	Invierno					
B. Japonesa	¿Animales?	Mosquito	Niños, adultos	Final de verano	Cerebro	Ratón, mono cabra		6 a 21	6 a 21

San Luis	Gallinas, ácaros de las gallinas y ¿otros animales?	Mosquito	Lactantes, adultos	Final de verano	Cerebro, songre	Ratón, mono		6 a 21	6 a 21
Equina del Oeste	Gallinas, ectoparásitos	Mosquito	Niños, adultos	Final de verano	Cerebro, sangre, L.C.R.	Ratón, huevo		6 a 21	6 a 21
Equina del Este	Aves, ¿mamíferos?	Mosquito	Niños	Final de verano	Cerebro, L.C.R., sangre	Ratón, cobayo		6 a 21	6 a 21
Equina venezolana	¿Aves?	Mosquito	Adultos, laboratoristas	Verano	Sangre (?) cerebro, lavados nasofaríngeos	Ratón, cobayo		6 a 21	6 a 21
Primaveroestival rusa	Roedores	Garrapata	Varones adultos	Primavera, principio de verano	Sangre, cerebro, L.C.R.	Ratón		6 a 21	6 a 42
Oeste del Nilo	¿Animales?	?	Adultos		Sangre, cerebro	Ratón, mono			6 a 42
Semliki	Mono	Mosquito	Adultos	Verano	Sangre, cerebro	Ratón			7 a 21
Louping ill (Encéfalomielitis de las ovejas)	¿Garrapata?	Garrapata	Adultos, laboratoristas	Primavera	Sangre, cerebro				

* Las reacciones serológicas son de gran ayuda cuando durante la infección se puede demostrar un cambio importante en el título de anticuerpos. Por lo tanto, la primera muestra debe obtenerse en el comienzo tan pronto como sea posible, pero no más tarde del primer día indicado en la tabla. La segunda muestra no debe obtenerse antes del segundo día que se indica. Las muestras tomadas en este segundo momento deberán mostrar un aumento significativo en el título de anticuerpos.
(1) Prueba de inhibición de la aglutinación eritrocítica. (2) Reacción de fijación del complemento. (3) Prueba de neutralización.

filtración señalan que sólo tiene un diámetro de 8 a 12 mμ. Por supuesto, cabe que el microorganismo tenga forma cilíndrica o filamentosa y sea considerablemente mayor de lo que indicarían las medidas obtenidas por filtración.

Cultivo. El virus se ha cultivado en presencia de tejido nervioso embrionario (Sabin y Olitsky, 1936), pero no hay todavía un método práctico para cultivarlo en cantidades suficientes para estudio adecuado.

Resistencia. El virus se destruye a 50° C. durante 30 minutos, por la acción de la luz ultravioleta, y de agentes oxidantes, como H_2O_2, MnO_4K y Cl_2. Resiste al éter y al fenol en bajas concentraciones a 0° C., a la congelación simple, a la desecación a los rayos X y a la vibración sónica (Jungeblut, 1937).

El virus es resistente a los cambios en la concentración de hidrogeniones y sobrevive en el agua (en la obscuridad) durante tres a cuatro meses. Se puede conservar durante años en glicerina al 50 por ciento. También se ha demostrado que su actividad persiste en la leche y productos lácteos.

Estructura antigénica. Los experimentos de inoculación y protección en monos y ratones indican que hay cierto número de tipos o cepas antigénicamente independientes. También hay variaciones en la virulencia entre las cepas del mismo tipo.

Infección experimental en animales de laboratorio. En los estudios originales de Landsteiner y Popper (1909) y en los de Flexner y sus colaboradores (1909), se emplearon los monos *Macacus rhesus* y *Cynocephalus hamadryas;* se comprobó que los monos *Cynocephalus* eran más susceptibles. Los monos *Cynomolgus* pueden infectarse por vía gastrointestinal (Howe y Bodian, 1940). La infección bucal con el virus de la poliomielitis no ofrece duda.

En 1939 Armstrong transmitió la cepa Lansing de virus de la poliomielitis de los monos a ratas americanas y más tarde logró adaptar la cepa a los ratones ordinarios de laboratorio. Con pocas excepciones, los otros intentos para implantar las cepas de monos a roedores han fracasado (Morgan y Olitsky, 1943); la mayor parte de las cepas sólo son patógenas para el hombre y el mono.

Tipos clínicos de infección en el hombre. En período interepidémico es difícil establecer el diagnóstico de poliomielitis hasta que aparece la parálisis. Durante una epidemia es evidente que hay muchos pacientes con infecciones leves de las vías respiratorias superiores, y otros sin manifestaciones clínicas de infección, que de hecho están infectados con el virus de la poliomielitis. El examen del líquido cefalorraquídeo de tales pacientes demuestra la presencia de células, particularmente linfocitos, indicando que el virus ha alcanzado realmente el sistema nervioso central, aunque estos pacientes no progresan hacia la fase paralítica. Incluso cuando el virus se halla en la sangre, puede no pasar la barrera hematoencefalítica (Bodian y Howe, 1941). En la fase febril inicial, los síntomas suelen ser semejantes a los de la influenza, eventualmente con síntomas gastrointestinales. Puede haber ligera rigidez y resistencia en los músculos de la nuca y la espalda, pero la rigidez característica de la meningitis rara vez se presenta.

En los casos típicos, la reacción febril remite a los tres o cuatro días y el paciente parece mejorar para recaer varios días después con fiebre y parálisis. La lesión histopatológica esencial se encuentra en las células del asta anterior, en la cual se encuentran frecuentemente cuerpos de inclusión intranucleares acidófilos. Este proceso, sin embargo, suele ser reversible; una parálisis leve o transitoria puede ir seguida de recuperación completa. Las parálisis ocurren de manera fortuita en los diversos grupos de músculos, si bien se afectan con mayor frecuencia los músculos de la pierna, tibial anterior, peroneo y cuadríceps femoral. La forma más grave y rápidamente

mortal de la enfermedad resulta de la participación del bulbo y de la medula cervical. Como el virus puede penetrar en el sistema nervioso central a través de nervios lesionados, los clínicos e investigadores aconsejan no extirpar dientes ni amígdalas en tiempos de epidemia.

Transmisión. Nuestro conocimiento de la epidemia de la poliomielitis está muy lejos de ser completo, y hay diferencias de opinión en cuanto a la interpretación de algunos de los hechos conocidos. Los primeros estudios sobre la enfermedad experimental en monos sugirieron que el virus entraba en el organismo por las ventanas de la nariz y caminaba hasta el sistema nervioso central por los nervios olfatorios. Durante algún tiempo se supuso que ésta era la única vía de infección, si bien la transmisión de poliomielitis por la leche señalaba la posibilidad de que el virus penetrara en el cuerpo por el intestino (Aycock, 1941). Lo seguro es que el virus puede salir del organismo por el intestino; Paul y sus colaboradores (1941) han demostrado el virus en las deyecciones de pacientes e individuos sanos en contacto con aquéllos y en las alcantarillas que drenan zonas donde existe la enfermedad.

El papel de los insectos portadores, tales como la mosca común, moscarda y moscas que pican al hombre ha sido considerado durante muchos años, particularmente a causa del predominio de la enfermedad al final del verano. El virus se ha obtenido de moscas no picadoras, y Melnick y Penner (1947) comprobaron que el virus persistía en las moscas durante dos semanas, y en las heces de éstas durante tres. Se han infectado con poliomielitis chimpancés, alimentándolos con comida que había sido expuesta a las moscas atrapadas en hogares de enfermos con poliomielitis. Ya en 1910 Leiner y Von Weisner demostraron que podían infectarse monos por vía intestinal. Los experimentos con *Cynocephalus*, muy susceptibles, indican que el virus puede atravesar la pared faríngea o intestinal y, después de multiplicarse localmente, difundir hasta el sistema nervioso central por vía de los nervios autónomos (Burnet y Jackson, 1940).

Muchos investigadores creen que la infección en el hombre ocurre con mayor frecuencia a través del tubo digestivo que del respiratorio y que las deyecciones juegan el papel más importante en la diseminación de la enfermedad (Ward y colaboradores, 1946; Sabin, 1944). Las amígdalas y la mucosa faríngea parecen ser los sitios de invasión. Pero no se sabe si la infección es llevada por el aire (gotitas o polvo) o por los alimentos.

Mucho se desconoce aún acerca de la *inmunidad* en la poliomielitis. Resulta difícil explicar la presencia de casos esporádicos y epidémicos en los niños de uno a cinco años, sin admitir que la mayor parte de la población adulta es inmune a la enfermedad. Se han demostrado anticuerpos neutralizantes en los sueros de gran número de adultos (Aycock y Kramer, 1930). Nosotros más bien creemos que la inmunidad general observada en la mayor parte de los adultos resulta de una infección subclínica previa, y nos resistimos a creer que tal inmunidad no específica esté asociada con el proceso de envejecimiento (Jungeblut, 1933).

Van acumulándose las pruebas indicadoras de que en los países que velan por la sanidad la poliomielitis se está haciendo más frecuente, más grave y tiene mayor tendencia a atacar la población adulta (Sabin, 1947).

En China, Filipinas y Japón la poliomielitis prácticamente nunca se ve en los adultos y es muy rara en los niños de uno a cinco años. La situación prevaleciente fué alta en los soldados americanos estacionados en estos países después de la segunda Guerra Mundial; aun así, la infección no se extendió desde ellos a los nativos, niños o adultos (Sabin, 1947). No se sabe si la cepa que infectó a los soldados era de origen americano o adquirida de la población nativa.

Tratamiento. No hay tratamiento específico eficaz para la poliomielitis. No se pueden producir anticuerpos en los animales resistentes como el caballo, vaca y cabra; los sueros de monos convalecientes, si bien contienen anticuerpos neutralizantes demostrables, no modifican en manera alguna el curso de la poliomielitis experimental.

Prevención. Las deyecciones y la orina del enfermo de poliomielitis deben ser consideradas tan infectantes como las de la fiebre tifoidea. Los pacientes sospechosos de poliomielitis deben ser aislados, pero es dudoso que el aislamiento influya materialmente en el curso de una epidemia, ya que la diseminación del virus ocurre probablemente en el período prodrómico de la enfermedad y la infección puede ser transmitida por los que adquieren infecciones subclínicas.

Aunque el sulfato de cinc y otras substancias químicas aplicadas a la mucosa olfatoria de los monos los protegía temporalmente de las infecciones experimentales por la vía intranasal, el método resultó inútil e incluso dañino cuando se aplicó al hombre (Tisdale y col., 1937).

La *inmunización pasiva*, con suero de mono convaleciente infectado en el laboratorio, con suero de pacientes convalecientes y de individuos normales sospechosos de haber tenido poliomielitis, no ha proporcionado una protección estadísticamente significativa (Park, 1932).

La *inmunización activa* se ha logrado en monos por inyección subcutánea o intramuscular de virus virulento (Aycock y Kagan, 1927). Sin embargo, los intentos para inmunizar a los niños con vacunas a base de virus activo dieron por resultado la producción de doce casos de poliomielitis (Leake, 1935). Las vacunas inactivadas fueron completamente ineficaces, pero en 1944 diversos investigadores publicaron haber logrado la inmunización de ratones con vacunas hechas de cepas de poliomielitis de roedores que habían sido infectadas por tratamiento con luz ultravioleta (McKinstry y Reading, 1944; Milzer, Oppenheimer y Levinson, 1944). Teniendo en cuenta que toman parte en la producción de la enfermedad diferentes cepas de virus de poliomielitis, el problema que supone la producción de una vacuna profiláctica eficaz presenta dificultades casi insuperables.

RABIA
Hidrofobia

La rabia, primitivamente enfermedad de los animales, infecta prácticamente a todos los mamíferos. Es más frecuente entre los carnívoros, como perros, gatos, zorros, lobos y coyotes, pero también son susceptibles los cobayos, conejos, ratones y ratas y algunas aves, como gallinas y gansos. También ocurre espontáneamente entre los zorrillos del sudoeste de Estados Unidos. La infección suele transmitirse por la mordedura del animal infectado, pero en Trinidad y Brasil, donde se infecta el ganado bovino, el virus es llevado por murciélagos vampiros.

Los antiguos griegos estaban familiarizados con los síntomas clínicos de la rabia y su forma de transmisión. La enfermedad fué descrita de tiempo en tiempo en Europa durante la Edad Media, pero no se progresó en el esclarecimiento de su naturaleza hasta que Galtier transmitió la infección a conejos en 1879. Fué verdaderamente una suerte el hecho de que los conejos adquieren la forma *tranquila* o paralítica de la enfermedad, y por tanto, son animales experimentales relativamente innocuos. El descubrimiento por Pasteur de un método de inmunización eficaz contra la rabia fué quizá la más brillante contribución a la medicina preventiva. El largo período

de incubación en el hombre, de 20 a 60 días, sugirió a Pasteur la posibilidad de que una víctima expuesta fuese inmunizada activamente durante el intervalo entre la introducción del virus y la aparición de los síntomas clínicos. Fracasó en aislar el virus en medios artificiales, pero su genio y su fe en los principios inmunológicos lo llevaron a intentar utilizar como agentes inmunizantes la medula espinal de conejos infectados experimentalmente. Ocurrió una modificación imprevista del virus cuando fué pasado por conejos, lo cual fué de la mayor importancia para el plan de Pasteur. El virus que pasa por perros infectados en condiciones naturales se conoce como "virus de la calle"; cuando se inocula intracerebralmente a conejos se produce en ellos una rabia tranquila. Conforme la infección se transmite de conejo a conejo por inoculación intracerebral, el período de incubación se va acortando gradualmente hasta ser de siete días; desde entonces permanece constante. Por contraste con el virus de la calle, el virus fijo no produce cuerpos de Negri. Este virus modificado se conoce como *virus fixé* (virus fijo). Pasteur atenuó este virus fijo desecándolo durante períodos variables de tiempo; la vacuna original consistía en porciones emulsionadas de medulas espinales infectadas que habían sido desecadas durante ciertos períodos (Pasteur, 1885).

Pasteur demostró que los perros inmunizados con la vacuna atenuada resistían a las inoculaciones intracerebrales de "virus de la calle" fresco y se dispuso a aplicar su vacuna al hombre. El primer paciente humano que recibió el tratamiento fué Joseph Meister, niño de nueve años que había sido gravemente mordido por un perro rabioso (DiVestea y Zagari, 1889). Joseph Meister no adquirió la rabia y los resultados obtenidos en otros muchos pacientes que pronto acudieron a Pasteur para ser inmunizados, probaron la eficacia del tratamiento. Esta demostración de la importancia práctica de las investigaciones de laboratorio hizo arder la imaginación del hombre común y desde todos los países del mundo se vertieron las contribuciones para construir el Instituto Pasteur.

Negri, en 1903, describió los cuerpos de inclusión intracitoplásmicos característicos en las células cerebrales. Estos cuerpos, conocidos como *cuerpos de Negri*, sabemos ahora que contienen el virus. Webster y Clow (1937) cultivaron el virus en cultivos de tejidos y Kligler y Bernhopf (1941) en huevos de gallina embrionados.

La rabia es endémica en todos los países civilizados, excepto Inglaterra y Hawai, que han logrado la erradicación de la enfermedad por vigilancia cuidadosa de los perros, reforzada por leyes sobre el uso de bozales y el apego estricto a las de importación e inmunización profiláctica de perros. La negligencia en el cumplimiento de las leyes existentes tuvo por resultado un aumento de rabia después de la primera Guerra Mundial y de la segunda (Rice y Beatty, 1928; Corwin y Stice, 1947). La experiencia en Inglaterra y Hawai ha demostrado que puede eliminarse la rabia en los perros, cumpliendo estrictamente las leyes existentes. Tal eliminación, por supuesto, es mucho más fácil de lograr por la condición insular de estos países.

Morfología y tinción. Con el uso de membranas de gradocol, Galloway y Elford (1936) calcularon que el tamaño del virus rábico varía enre 100 y 500 mμ. Los cuerpos de inclusión descritos por Negri suelen ser de forma esférica u oval y se encuentran dentro del citoplasma de las grandes células ganglionares del hipocampo y en las células de Purkinje del cerebelo (Johnson, 1942; Rifkin y col., 1945). Varían en tamaño desde una a diez micras de diámetro y se caracterizan por un "cuerpo interno". Cuando se tiñen por los métodos de Giemsa o Seller, tienen color rosado, con elementos basófilos azules dentro de la substancia acidófila de fondo. La técnica de tinción de estos cuerpos por el método de Seller se describe en el Capítulo LXX. Desgraciadamente, alrededor del 12 por ciento de los cerebros de

animales rabiosos conocidos no muestran corpúsculos de Negri (Leech,, 1938; Willett y Sulkin, 1939), lo cual hace necesario inocular ratones intracerebralmente con porciones de hipocampo y cerebelo. A veces se pueden demostrar los cuerpos de Negri en los ratones muy pronto, al quinto o sexto día de la inoculación; pero los animales mueren obligadamente en diez a doce días (Webster y Dawson, 1935; Johnson, 1942).

Cultivo. Como hemos dicho, el virus de la rabia se ha cultivado en cultivos de tejido y en embrión de pollo (Dawson, 1939; Plotz y Reagan, 1942) ; estos métodos no han resultado prácticos para producir vacunas en gran escala, por lo que en la preparación de vacunas comerciales se utilizan las medulas espinales de conejos infectados.

Resistencia. El virus rábico se destruye rápidamente por exposición al aire, la luz solar o la desecación lenta. Es particularmente sensible a la irradiación con luz ultravioleta; se ha utilizado la inactivación por esta luz como método de preparación de vacunas (Sankaran y Beer, 1935; Levinson y col., 1945). El virus se destruye a 56° C. durante 30 minutos y se conserva por la glicerina y el frío extremo; se inactiva lentamente por casi todos los antisépticos de uso común. El virus se puede conservar durante meses por liofilización de los tejidos infectados.

Análisis antigénico. Se supone, por lo general, que sólo hay un tipo antigénico de virus rábico, ya que las vacunas preparadas de una sola cepa han resultado eficaces para inmunizar animales y hombres contra la infección.

Enfermedad espontánea en los animales. Como hemos señalado en la introducción, la rabia es una enfermedad primitiva de los carnívoros, particularmente perros, gatos, zorros, lobos y coyotes. El perro presenta gran variedad de síntomas, que va desde el tipo paralítico o *tranquilo* hasta el tipo excitado, sobreactivo o *furioso* de la enfermedad. Los síntomas dependen también en cierto grado de la disposición del perro. Algunos animales son extremadamente afectuosos durante los primeros períodos de la infección; otros están inquietos e irritables y muerden a todo ser viviente. Conforme la enfermedad progresa, la mandíbula cae, la lengua se proyecta al exterior y el animal es incapaz de tragar; la excitación producida por el gusto o por la vista del agua ha dado lugar al nombre popular de *hidrofobia*. El tipo *paralítico* o *tranquilo* de la rabia rara vez se reconoce, porque no tiene el primer período de excitación e irritabilidad. Todo cambio en la disposición de un animal debe ser, por tanto, considerado como sospechoso; tal animal debe ser recogido y observado por un veterinario competente durante 14 días. Cualquier animal que haya mordido a un ser humano debe ser considerado como potencialmente rabioso y se le debe aislar y observar. El virus se encuentra en la saliva del perro cuatro o cinco días antes de la aparición de los síntomas; el animal no vive más de diez a catorce días después del comienzo de la enfermedad clínica. Nunca debe matarse al animal sospechoso inmediatamente después de morder ni antes de la aparición clínica de la rabia, porque tal medida reduce grandemente las posibilidades de establecer el diagnóstico positivo por examen del cerebro (Kelser, 1940). En ocasiones, el período de incubación en el perro es hasta de seis meses; en consecuencia, los perros que se sabe han estado expuestos a la rabia deben ser sacrificados inmediatamente o confinados durante este período.

Los síntomas en otros carnívoros semejan a los que presentan los perros; lo animales herbívoros desarrollan con mejor frecuencia el tipo paralítico o *tranquil* de la enfermedad.

Los murciélagos vampiros de Trinidad y Brasil plantean un problema muy dificil. Son responsables de la conservación de la infección en los bóvidos; por lo tanto ocasionan grandes pérdidas económicas.

Infección experimental en animales de laboratorio. Prácticamente, todos los animales son susceptibles a la inoculación artificial con virus rábico. La inoculación con *virus fixé* no produce corpúsculos de Negri, pero las células nerviosas presentan gran número de gránulos rojos finos, que se pueden descubrir con tinción de Mann. El ratón, el más útil de los animales pequeños de laboratorio, desarrolla la infección regularmente 7 a 14 días después de la inoculación intracerebral de cerebro de un animal rabioso. Deben inocularse por lo menos de cuatro a seis ratones con cada muestra, para que los animales puedan ser sacrificados sucesivamente, empezando al quinto día, y examinados sus cerebros en busca de los cuerpos de Negri.

Tipos clínicos de infección en el hombre. Aproximadamente el 25 a 35 por ciento de los individuos mordidos por animales que se saben rabiosos desarrollan la infección (Cornwall, 1923; Kelser, 1940). Si bien puede haber variaciones en la virulencia de las diferentes cepas de virus de la rabia, los factores más importantes son la dosis infectante y el sitio de la mordedura. Como los virus parecen alcanzar el sistema nervioso central difundiendo a lo largo de los nervios periféricos, el período de incubación es más largo cuando la mordedura tuvo lugar en las piernas o en el tronco, más corto cuando está en el cuello, cara o cabeza. La cantidad de virus introducido dependerá de factores tales como riqueza en la saliva del perro rabioso, profundidad de la herida, y si la mordedura fué sobre piel desnuda o a través de ropa. El virus puede penetrar en el organismo a través de erosiones recientes de la piel, aun sin mordedura (Meyer y Eddie, 1947).

El período de incubación en el hombre suele ser de seis a nueve semanas, pero puede ser menor de 30 días cuando la mordedura se halla cerca de la cabeza o de la cara; hasta de seis meses cuando se introduce una pequeña cantidad de virus por una rozadura de una extremidad.

La enfermedad suele empezar con dolor de cabeza y depresión nerviosa, seguidos por dificultad en la deglución, espasmos de los músculos respiratorios y temor a los alimentos y al agua (hidrofobia). Los ataques espasmódicos son intermitentes; los intervalos entre ellos se caracterizan por períodos de terror y depresión nerviosa (Duffy y col., 1947). En ocasiones, los ataques maníacos son tan graves que el paciente pierde todo autodominio. Finalmente, queda paralítico, entra en coma y muere.

El tipo de comienzo paralítico es raro cuando la rabia se adquiere de un animal carnívoro, pero constituye la forma característica de la enfermedad transmitida por los vampiros de Trinidad y Brasil. Los síntomas iniciales son de entumecimiento seguido por parálisis fláccida de las partes afectadas.

El examen simple de los tejidos de un animal u hombre rabiosos sólo muestra escasas equimosis en algunas mucosas y serosas. Microscópicamente, sin embargo, hay muchas alteraciones, como necrosis y cambios degenerativos en el sistema nervioso central y presencia de corpúsculos de Negri (Bulletin, 1948).

Productos biológicos. Se han preparado sueros inmunes de conejo, que proporcionan protección pasiva contra la infección experimental con virus de la rabia (Habel, 1945).

La vacuna original de Pasteur se hizo de *virus fixé*, que tiene alta virulencia para el conejo, pero poca para otros animales, incluyendo el hombre, cuando se inyecta subcutáneamente. La vacuna se prepara de medulas de conejos desecadas durante períodos variables de tiempo; el tratamiento supone la inyección diaria de vacuna durante tres semanas. La primera dosis consiste en medula desecada durante el máximo de tiempo; las dosis sucesivas, en materiales progresivamente menos atenuados.

El fenol se utiliza para inactivar el virus al preparar las vacunas de Fermi, Semple, Puntoni, Mulford, Lépine y Pereira da Silva (Greenwood, 1945-46). La vacuna más utilizada en la actualidad es la preparada por Semple (Greenwood, 1945-46). Con la vacuna fenolada, el tratamiento dura catorce días; cada dosis consta de la misma cantidad y tipo de material. En caso de infección por mordedura de cabeza o cuello, se administran dos dosis diarias durante la primera semana, seguidas por una dosis diaria durante otros siete días.

El Instituto Nacional de Sanidad de EE. UU. recomienda la vacuna de Levinson (Levinson y col., 1945). El virus fijo se inactiva por exposición a la luz ultravioleta. Esta vacuna conserva gran potencia después de almacenamiento prolongado y ocasiona reacciones tóxicas mínimas.

Tratamiento. Hasta el momento no se conoce tratamiento alguno para la rabia. Debe recluirse al paciente y aliviarlo lo más posible con opiáceos e hipnóticos potentes.

Prevención. Con excepción del vampiro, al cual nos hemos referido antes, el perro es el reservorio primitivo de la infección, tanto para el hombre como para los demás animales. La destrucción despiadada de los perros vagabundos y la inmunización activa de los perros domésticos es esencial para eliminar la enfermedad. Debe imponerse un período suficientemente largo de cuarentena a los perros que se envían a regiones libres de rabia. Se puede establecer y mantener la inmunidad en los perros por inyección de vacuna antirrábica repetida cada año.

En el hombre, la prevención de la enfermedad depende de la producción de inmunidad activa durante el prolongado período de incubación. La técnica recomendada por Havel (1945) es como sigue: todo animal que muerda a un ser humano debe ser atrapado y confinado bajo la observación de un veterinario; el paciente debe recibir inmediatamente suero inmune. El suero no evita la aparición de la rabia, pero alarga el período de incubación. Si el animal infectado no muere dentro de 7 a 14 días, queda eliminada la posibilidad de la rabia y no es necesaria la inmunización. Cuando el animal en observación enferma gravemente o muere, debe examinarse el cerebro buscando corpúsculos de Negri; si éstos no se encuentran, deben inyectarse porciones del cerebro a ratones en la forma ya descrita. Cuando se establece el diagnóstico debe procederse a la inmunización profiláctica, con la vacuna original de Pasteur, con la de Semple o con la más moderna de virus inactivado con luz ultravioleta de Levinson y colaboradores (1945).

Aunque las inyecciones de vacunas suelen darse en el tejido subcutáneo de la pared abdominal, preferimos distribuir las inyecciones bajo la piel de la espalda, de modo que no se pongan dos inyecciones en la misma zona. Después de la cuarta o la quinta el paciente empieza a presentar reacción local caracterizada por enrojecimiento e induración en el sitio de inyección. Conforme el tratamiento se continúa, las reacciones locales se van haciendo menos intensas, lo cual permite suponer que se logra cierta desensibilización.

La inmunización profiláctica contra la rabia no es método completamente innocuo (Horack, 1939; Zabludovich, 1947; Koenigsfeld, 1945; Editorial, 1947). En uno de cada 3 000 a 10 000 pacientes se producen reacciones graves que llegan hasta la parálisis (Kelser, 1940). Tales reacciones ocurren antes que empiece la rabia y terminan mortalmente en un 25 por ciento de los casos (Remlinger, 1927). Horack ha comprobado que los pacientes que padecen alergias clínicas, o los pertenecientes a familias alérgicas, tienen mayor tendencia a presentar reacciones graves con las vacunas. Si las inyecciones tercera a quinta producen no solamente intensa reacción local, sino también enrojecimiento en el sitio de las inyecciones previas, la vacu-

nación debe ser interrumpida, o deben administrarse pequeñas dosis desensibilizantes hasta que el paciente no presente tal reacción. El número de reacciones molestas de tipo alérgico puede ser reducido por observación cuidadosa.

Legislación. Como el perro es el reservorio principal de la rabia, las leyes referentes a supervisión, licencias, importación, cuarentena e inmunización profiláctica de este animal son imperiosas. Todo caso de rabia en los animales o en el hombre debe ser comunicado en todos los Estados de Norteamérica. Debe practicarse la inmunización en masa de los perros; según las recomendaciones del Subcomité de la Rabia del National Research Council de 26 de noviembre de 1945, una inyección única de 5 c.c. de una vacuna aprobada es eficaz durante un año. Sin embargo, tres inyecciones de 5 c.c. administradas con intervalos de una semana suministran buena inmunización y deben aconsejarse en la práctica.

No se debe ser demasiado categórico ni poner demasiada confianza en la inmunización de los animales a expensas de los demás métodos de vigilancia. Sin embargo, la inmunización profiláctica de los perros constituye un paso importante para exterminar la rabia (Casals, 1945).

SEUDORRABIA

Enfermedad de Aujeszky, prurito loco, parálisis bulbar infecciosa

La seudorrabia es una enfermedad de bóvidos, caballos, cabras, ovejas, cerdos, perros, gatos, ratas y ratones. Afortunadamente, el hombre no es susceptible. Aunque la infección fué descrita por Aujeszky en 1902, hasta 1930 no se estudió en detalle.

El virus invade el sistema nervioso central. En las infecciones experimentales, después de un período de incubación de algunas horas, comienza bruscamente un prurito intolerable, seguido de parálisis, que dura de 24 a 48 horas y termina en la muerte. A diferencia de la rabia, las facultades mentales y los músculos del maxilar inferior no están afectados (Remlinger y Bailly, 1934).

El virus, medido por membranas de gradocol, tiene 100 a 150 $m\mu$ (Elford y Galloway, 1936). Se destruye a 60° C. en 35 minutos; se puede conservar en glicerina al 50 por ciento a 5° C. Los animales curados de la enfermedad gozan de inmunidad potente.

CORIOMENINGITIS LINFOCITICA

En 1925, Wallgren propuso el término de "meningitis aséptica aguda" para un síndrome febril benigno, agudo, con signos y síntomas referibles al sistema nervioso central y en el cual el líquido cefalorraquídeo presentaba pleocitosis linfocítica, en ausencia de toda bacteria. La meningitis aséptica puede estar causada por diversos agentes, incluyendo el virus de la poliomielitis, de modo que el diagnóstico sólo puede establecerse por investigaciones de laboratorio. En 1938, Baird y Rivers comprobaron que el 32 por ciento de los sueros de los pacientes diagnosticados de meningitis aséptica neutralizaban el virus de la coriomeningitis linfocítica. Además, el virus no se limita en su actividad a las meninges, sino que produce en el hombre gran diversidad de síntomas (Armstrong y Hornibrook, 1941; MacCallum y Findlay, 1939; Findlay y col., 1936).

El virus de la coriomeningitis linfocítica se encuentra en el líquido cefalorraquídeo, sangre y secreciones nasofaríngeas del hombre; se puede transmitir a ratones

y cobayos por inoculación intracerebral e intraperitoneal (Armstrong y Lillie, 1934; Rivers y Scott, 1935). Durante la convalecencia se encuentran en el suero de los pacientes anticuerpos neutralizantes (Howard, 1939). Smadel y colaboradores (1939a) obtuvieron reacciones de fijación del complemento positivas con sueros de pacientes curados usando un antígeno específico soluble preparado con tejidos infectados con virus de coriomeningitis linfocítica. Howard (1939), Armstrong (1941) y Farmer y Janeway (1942) han publicado excelentes revisiones.

Morfología. El virus mide 100 a 150 mμ de diámetro, calculado por ultrafiltración.

Resistencia. Resiste a una solución de fosfato de glicerina al 50 por ciento; cuando se conserva a 0° C. o liofilizado permanece viable durante meses. Lepine y colaboradores (1937) comprobaron que una suspensión del virus se hacía inactiva después de tres horas a 20° C.

Cultivo. El virus se puede cultivar en la membrana corioalantoidea de huevos de gallina embrionados (Bengtson y Wooley, 1936) o también en cultivos de tejidos utilizando medios de suero-embrión de pollo desmenuzado (MacCallum y Findlay, 1940).

Estructura antigénica. Según Smadel y colaboradores (1939b), el virus contiene un antígeno soluble, termoestable, de naturaleza proteínica, que se puede demostrar por pruebas de precipitación y fijación del complemento. Este antígeno soluble, al parecer, es diferente del que reacciona con los anticuerpos neutralizantes en los sueros inmunes. Sólo el 10 por ciento de 2 000 individuos normales tenían en sus sueros anticuerpos neutralizantes para este virus (Armstrong, 1941).

Poder patógeno. El virus produce epizootias en perros, monos, cobayos y ratones (Meyer, 1939; Traub, 1936). Por tanto, es esencial que los animales utilizados para diagnóstico sean seleccionados de colonias libres de la infección. Para aislar el virus desde el hombre, los animales de elección son el mono y el cobayo. Cuando se inyecta intraperitonealmente en cobayos sangre o líquido cefalorraquídeo de un individuo afectado, los animales suelen enfermar siete a diez días después de la primera inoculación. Después de varios pasos el virus se hace más virulento y mata a los cobayos en 12 a 18 días; pero conforme aumenta la virulencia para el cobayo, disminuye para el ratón. El paso por ratones disminuye la virulencia para los cobayos. Se ha logrado inmunizar a estos últimos animales con cepas adaptadas al ratón y por vacunas formoladas hechas de cepas de cultivo.

En el hombre, la infección puede simular la influenza (Armstrong y Hornibrook, 1941), la poliomielitis (MacCallum y Findlay, 1939), la encefalitis (Howard, 1940) o una enfermedad general grave semejante a la leucemia aguda. Afortunadamente la enfermedad es leve y la mortalidad baja. Durante el período prodrómico el virus se encuentra en la sangre; únicamente en la fase aguda de la enfermedad se encuentra tanto en la sangre como en el líquido cefalorraquídeo. Los anticuerpos fijadores del complemento, que aparecen entre el séptimo y el vigésimo primer día de la enfermedad, suelen desaparecer después de unos dos meses. Los anticuerpos neutralizantes aparecen más tarde, entre los 21 y los 42 días de la enfermedad, y persisten durante la convalecencia y meses o incluso años después.

Transmisión. Como el virus se ha encontrado en la sangre de animales, Coggeshall (1939), Shaughnessy y Milzer (1939) y Milzer (1942) investigaron la posible existencia de un vector artrópodo. Sus experimentos demostraron que *Aëdes aegypti*, *Dermacentor andersoni* y las chinches caseras podían transmitir la enfermedad. El ratón puede ser el reservorio del cual se infecta el hombre, ya que este animal excreta el virus con la orina, heces, semen y secreciones nasales.

Tratamiento. No hay tratamiento específico, pero deben hacerse punciones lumbares repetidas para aliviar el intenso dolor de cabeza. Como no se tiene conocimiento preciso de la transmisión de la enfermedad no se pueden aconsejar medidas preventivas específicas. Debe aislarse al paciente; en EE. UU. es obligado denunciar el caso a las autoridades sanitarias.

ENCEFALITIS EPIDEMICA

Encefalitis de Von Economo, tipo A

Sólo desde 1917 se ha reconocido la encefalitis epidémica como entidad clínica distinta e importante. La enfermedad probablemente ha existido, sin ser reconocida, antes de esa fecha, a juzgar por las descripciones de "enfermedad del sueño" y los bien conocidos ejemplos de aparición del síndrome de Parkinson después de una enfermedad febril.

Es difícil determinar si la enfermedad, reconocida ahora como *encefalitis letárgica*, tiene o no relación con los estados descritos antiguamente como "Schlafkrankheit" o "Enfermedad del sueño" (que no debe confundirse con la enfermedad del sueño africana causada por tripanosomas). Se sabe que Camerarius, a quien citamos de Smith (1921), describió una enfermedad epidémica en Alemania, en 1712, que probablemente era encefalitis. En 1768 y en 1835 aparecieron epidemias similares al repetirse brotes de influenza. Después de la epidemia de influenza de 1889 se registraron relativamente pocos casos de lo que referimos ahora como encefalitis letárgica, si bien las complicaciones nerviosas eran al parecer muy comunes. Los estudios modernos acerca de la enfermedad empezaron al aparecer muchos casos de encefalitis letárgica después de la pandemia de influenza de 1917-1918. Tales casos se observaron en lugares muy diferentes y al principio fueron tomados erróneamente por poliomielitis, o no se diagnosticaron antes de la muerte. El diagnóstico es aún difícil, por cuanto no hay métodos de laboratorio que completen la tríada clínica de fiebre, somnolencia y oftalmoplejía (Frisch, 1947). Aunque se han observado brotes epidémicos de encefalitis de Von Economo después de los de influenza, esta relación no ha sido constante.

Una de las primeras referencias sistemáticas fué la de Von Economo (1917), quien describió un brote de la enfermedad en Viena. Wilson (1918), Hall (1918) y otros autores estudiaron y registraron cierto número de casos ocurridos en Gran Bretaña.

En su estudio epidemiológico de la enfermedad, Smith (1921) estableció que los primeros brotes ocurridos en 1917, en Europa Central, aparecieron en Francia, Gran Bretaña y Argel en 1917 y 1918 y alcanzaron el norte de América durante la última mitad de 1918 y principios de 1919 (Editorial). La enfermedad se extendió rápidamente por Estados Unidos, y en mayo de 1919 se registró en veinte Estados. El mayor número de casos se registró en Illinois, Nueva York, Luisiana y Tennessee, sugiriendo la falta de relación entre la aparición de la enfermedad y las condiciones climáticas. La enfermedad se extendió por Estados Unidos de Este a Oeste y ha persistido en ese país, en forma esporádica, desde 1919.

Desde que Levaditi y Harvier (1922) aislaron de los pacientes una cepa de virus herpético que producía encefalitis en los conejos, han aparecido muchos trabajos acerca de la relación entre virus del herpes y encefalitis de tipo Von Economo. Sin embargo, la etiología de esta última enfermedad permanece aún obscura, ya que no se ha cultivado el virus ni se ha transmitido a los animales.

ENCEFALITIS DE SAN LUIS

En Cincinnati, Ohio, y en Paris, Illinois, durante el verano de 1932, ocurrieron muchos casos de encefalitis, que al principio se consideraron de encefalitis letárgica de tipo Von Economo. Al año siguiente se registraron más de 1 000 casos de encefalitis en el Condado de San Luis, Missouri; el estudio de esta epidemia, hecho por Muckenfuss, Armstrong y McCordock (1933) y Webster y Fite (1933), demostró de manera concluyente que la encefalitis estaba causada por un virus filtrable, que no era posible distinguir del que había causado el brote anterior en Paris, Illinois. La misma enfermedad volvió a aparecer en San Luis en 1937; desde entonces han ocurrido pequeños brotes en otros Estados del Oeste (Lennette, 1946; Hammon, 1943).

Morfología. El tamaño del virus, determinado por ultrafiltración, es de 20 a 33 mμ.

Cultivo. El virus se puede cultivar en medios que contengan tejidos triturados de embrión de ratón (Syverton y Berry, 1935) y en el huevo de gallina embrionado (Harrison y Moore, 1937).

Resistencia. El virus es resistente a la glicerina y a la congelación; las emulsiones de cerebro de ratón congeladas conservan su virulencia durante meses. El virus resiste al fenol al 1 por ciento durante 25 días si se guarda en frío; el formol al 0,1 por ciento lo inactiva en 12 horas a la temperatura de la habitación (Brodie, 1934). Tiene un margen de estabilidad de pH entre 8,4 y 8,8, similar al del virus de la encefalitis B japonesa (Duffy, 1946).

Análisis antigénico. Los virus que causan la encefalitis de San Luis y la encefalitis B. japonesa están relacionados serológicamente, si bien se pueden distinguir el uno del otro (Webster, 1938). El virus de la encefalomielitis de las ovejas *(louping ill)* y de la encefalitis primavero-estival rusa son antigénicamente diferentes del de la encefalitis de San Luis.

Infección espontánea en animales. En las regiones endémicas, los sueros de muchos animales y aves silvestres contienen anticuerpos neutralizantes, indicando un amplio grado de difusión del virus. Las inoculaciones experimentales a tales animales suelen tener como resultado el desarrollo de infecciones subclínicas y la aparición de anticuerpos.

Infección experimental en animales de laboratorio. Los ratones inoculados intracerebralmente presentan temblores y convulsiones; la muerte suele producirse entre el cuarto y el sexto día.

Los monos *Macacus rhesus* son susceptibles a la infección por inoculación intracerebral e intraperitoneal de suspensiones de tejido cerebral de casos de encefalitis. Después de un breve período febril, los monos presentan excitabilidad, debilidad muscular y temblores, pero se recuperan. Los cebús, monos de Java y conejos son refractarios a la infección.

Tipos clínicos de infección en el hombre. Después de un período de incubación de cuatro a veintiún días, comienza repentinamente dolor de cabeza y fiebre alta, rigidez muscular y temblores. En los pacientes que sobreviven, la fase aguda grave dura de siete a diez días y la curación es rápida y completa. El líquido cefalorraquídeo, que suele hallarse a presión algo aumentada, presenta pleocitosis de 50 a 250 células mononucleares.

Los anticuerpos fijadores del complemento aparecen después de la primera semana de la enfermedad y pueden ayudar a confirmar la impresión clínica (Casals y Palacios, 1941).

Los sueros del 82 por ciento de los convalecientes muestran anticuerpos neutralizantes, según se ha demostrado por pruebas de protección al ratón (Webster, Fite y Clow, 1935). Wooley (1934) examinó sueros humanos normales recogidos en diferentes partes de Estados Unidos y encontró que el 30 por ciento de las muestras contenían anticuerpos neutralizantes para el virus. La enfermedad no está limitada a los Estados Unidos, ya que también se han encontrado anticuerpos neutralizantes en diversas regiones de Africa (Smithburn y Jacobs, 1942).

El cuadro histopatológico del tejido cerebral afectado es un proceso inflamatorio no supurado con infiltración perivascular de mononucleares. En algunos focos de acumulo celular se observa neuronofagia.

Transmisión. La epidemia de San Luis empezó en julio y acabó bruscamente en octubre. Al principio, la enfermedad tuvo distribución rural; los casos se concentraron cerca de pequeños arroyos y charcas, y en regiones donde las aguas negras circulaban por canales abiertos. Los datos epidemiológicos permitían suponer la existencia de un insecto vector, pero las primeras investigaciones no parecieron confirmar esta hipótesis. Sin embargo, se han ido acumulando pruebas de que en la transmisión de la infección participa un insecto. Hammon y Reeves (1945), estudiando el mosquito *Culex dorsalis* en el valle de Yakima, Washington, aislaron tres cepas de virus de San Luis y demostraron que el mosquito era capaz de transmitir experimentalmente la enfermedad. Estos autores lograron aislar el virus de *Aëdes* infectados naturalmente atrapados en California. Además, el virus fué aislado de ácaros *(Liponyssus sylviarum)* encontrados en los nidos de ciertos mirlos (Reeves y col., 1947; Hammon y col., 1948).

Productos biológicos. No hay vacunas en el comercio para inmunización activa. Experimentalmente se ha utilizado una vacuna de cerebro de ratón.

Tratamiento. La terapéutica de la encefalitis de San Luis es enteramente sintomática.

Prevención. En la actualidad los métodos de lucha contra el mosquito parecen ser los únicos que pueden impedir la infección.

ENCEFALOMIELITIS EQUINA

Durante muchos años se ha conocido en Europa como enfermedad de Borna una encefalomielitis de caballos y mulos producida por virus (Hurst, 1934). Se observa una enfermedad similar, aunque más aguda, en Estados Unidos, Canadá, Sudamérica, Australia y este de Asia, donde las epizootias ocasionadas por este virus son de gran importancia económica para la ganadería. En 1931, Meyer, Haring y Howitt publicaron el aislamiento de un virus de caballos de California afectados; más tarde, Meyer (1932-33) sugirió que la enfermedad podía ser transmitida al hombre.

En Massachusetts, en 1938, enfermaron algunos pacientes con un tipo raro de encefalitis que apareció al mismo tiempo que una epidemia de encefalomielitis entre los caballos. Fothergill y colaboradores (1938) y Webster y Wright (1938) establecieron el diagnóstico en el hombre por aislamiento en el tejido cerebral de virus del Este. Howitt (1938a) publicó entonces el aislamiento de virus del Oeste, a partir de tejido cerebral de un caso humano mortal en California; Casals y colaboradores (1943) describieron la infección de trabajadores de laboratorio con el tipo Venezolano, y Howitt (1938b) publicó un caso de infección humana con tipo Ruso. Así, una enfermedad que durante años se creyó estrictamente limitada a los caballos fué reconocida como amenaza para el hombre y llegó a constituir un problema importante de sanidad pública.

Morfología. Por microfotografía electrónica, el virus de tipo Este tiene un diámetro aproximado de 50,4 a 56,8 mμ (Sharp y col., 1943). Los estudios por sedimentación revelan que la cepa Oeste es algo diferente de la Este (Sharp y col., 1939). Sin embargo, ambas muestran imágenes circulares uniformes en las microfotografías electrónicas y no se pueden observar diferencias definidas entre las cepas Este y Oeste (Beard, 1948). El virus se conserva durante largo tiempo por liofilización o en glicerina al 50% tamponada a pH 7,4 a 7,5. El virus es bastante resistente al fenol al 0,5%, pero se destruye por formol, agua destilada y solución salina fisiológica a pH inferior a 6.

Cultivo. El virus se puede cultivar en huevo de gallina embrionado (Higbie y Howitt, 1935).

Análisis antigénico. Hay cuatro virus inmunológicamente diferentes que causan la enfermedad: el del Este, el del Oeste (Argentina), el Ruso y el Venezolano. La cordillera de los montes Apalaches sirve de línea divisoria entre los tipos Este y Oeste. Beck y Wyckoff (1938) demostraron que el virus Venezolano era diferente de las variedades Este y Oeste; la individualidad del virus Ruso "Moscow 2" fué comprobada por Howitt (1938b).

Infección espontánea en animales. Ninguna otra de las enfermedades producidas por virus estudiadas hasta ahora ha demostrado tener un espectro tan amplio de animales, aves y mamíferos susceptibles. Aunque la enfermedad llamó la atención en los caballos, en los cuales causa una infección gravísima conocida por el vulgo como *botulismo, intoxicación por el forraje, marcha de ciego*, el caballo probablemente no es el huésped primario, por cuanto el virus ha sido encontrado en muchos otros animales domésticos y silvestres (Tenbroeck y col., 1935). El hecho de que el virus sólo esté presente en la sangre del caballo durante un período muy corto permite creer que otros animales sean reservorios más importantes.

Infección experimental en animales de laboratorio. Muchos animales, como cobayos, ratas, ratones, monos, conejos, cabras y terneras, son susceptibles para la infección con este virus (Meyer, 1933; Shahan y Giltner, 1934). Las ovejas, perros y gatos son resistentes al virus del Oeste, pero no al del Este (Giltner y Shahan, 1936). Entre las aves susceptibles están las palomas, los gansos, mirlos, buitres, cigüeñas y patos (Remlinger y Bailly, 1936).

Después de la inoculación, pavos y gallinas pueden llevar el virus en la sangre sin presentar síntomas (Tenbroeck, 1938).

Tipos clínicos de infección en el hombre. La enfermedad, tanto en el hombre como en los caballos, se presenta durante el verano y otoño y está relacionada directamente con la prevalencia de los mosquitos. La infección del *Oeste* ocurre con mayor frecuencia en las zonas rurales y afecta a los adultos y a los niños; la encefalomielitis equina del *Este* es principalmente enfermedad de niños. El comienzo de los síntomas es repentino, con fiebre alta, irritabilidad, convulsiones, cianosis, vómitos, somnolencia y contracturas musculares. Aparecen todos los signos de hipertensión intracraneal, y el examen del líquido cefalorraquídeo demuestra elevación de las proteínas totales y pleocitosis hasta de 2 000 células, con predominio de polinucleares. En los individuos gravemente enfermos, la muerte ocurre pronto; en muchos de los que se recuperan, persisten trastornos mentales y neurológicos. El virus del Este produce en el hombre una enfermedad más grave que el tipo Oeste.

En el hombre, los anticuerpos neutralizantes aparecen en el suero, incluso seis a ocho días después del comienzo. La prueba de neutralización es notablemente específica en esta enfermedad, lo que la hace una excelente ayuda diagnóstica de laboratorio (Whitman, 1947).

El virus muestra un pantropismo considerable; ataca tanto los tejidos de origen ectodérmico como los mesodérmicos. Las zonas locales de destrucción de células nerviosas, la infiltración con leucocitos polinucleares neutrófilos y células de microglía, abultamientos perivasculares, trombosis y, con frecuencia, neuronofagia, son característicos de esta meningoencefalitis (Farber y Branch, 1939).

Transmisión. Kelser (1933) demostró que la enfermedad podía transmitirse a cobayos y caballos por mosquitos *Aëdes aegypti* infectados. Desde entonces se han encontrado numerosos insectos capaces de transmitir la infección, incluyendo la garrapata *Dermacentor andersoni* (Syverton y Berry, 1937), ácaros, *Liponyssus sylviarum* (Reeves y col., 1947; Hammon y col., 1948) y chinches, *Triatoma sanguisuga* (Grundemann y col., 1943). El virus puede pasar en las garrapatas por vía transovárica (Syverton y Berry, 1937). *Culex tarsalis* es probablemente el vector más importante de la encefalomielitis equina del Oeste. Se ha aislado el virus de los ectoparásitos de las gallinas y pájaros; los últimos pueden ser reservorios para el mosquito. *Aëdes* es probablemente el vector de la enfermedad de tipo Este.

Productos biológicos. Se ha obtenido una vacuna excelente para inmunización de caballos y mulos, tratando con formol virus cultivado en embrión de pollo (Beard y col., 1938). También se ha empleado con éxito la vacuna para inmunizar personas que trabajan en laboratorios.

Se ha demostrado que el suero del conejo hiperinmune inmuniza pasivamente a los animales (Zichis y Shaughnessy, 1940).

Tratamiento. No hay tratamiento específico para la encefalomielitis equina.

Prevención. La inmunización activa de los caballos no solamente reduce la frecuencia de la enfermedad en estos animales, sino que también disminuye la de infecciones humanas. Las medidas contra los insectos también son beneficiosas. El personal de laboratorio que maneja el virus debe ser inmunizado con la vacuna.

ENCEFALOMIELITIS EQUINA VENEZOLANA

El virus causal de la encefalomielitis equina de tipo venezolano es inmunológicamente distinto de los dos tipos que causan la enfermedad en los Estados Unidos (Beck y Wyckoff, 1938; Kubes y Ríos, 1939). El virus es muy infeccioso para el hombre; en dos pequeñas epidemias graves de laboratorio murieron dos pacientes por esta infección (Casals y col., 1943).

El período de incubación sólo dura tres o cuatro días; los síntomas semejan a los de la *grippe*, con dolores generalizados, malestar y dolor de cabeza intenso y persistente. Durante la convalecencia aparecen en el suero anticuerpos neutralizantes específicos (Koprowski y Cox, 1947).

ENCEFALITIS B JAPONESA

Encefalitis "B", Encefalitis de verano

Durante muchos años se han producido en las Islas Japonesas brotes estivales de encefalitis aguda. La epidemia de 1924, aunque centrada en la región del mar interior, cubrió una amplia zona y causó 4 000 muertes entre 6 000 casos registrados. Fué durante esta última epidemia cuando los estudios clínicos de Kaneko y Aoki (1928) diferenciaron esta entidad. El virus fué aislado por Takaki (1926) y Taniguchi y colaboradores (1936). Desde 1924 han ocurrido brotes epidémicos anuales (Matheson Commission, 1939; Lewis y col., 1947; Sabin, 1947).

La encefalitis B japonesa se ha observado también en Siberia, Corea, islas Ryukyu, Formosa, China, Manchuria y Krais marítimo (Warren, 1946). En 1945 hubo un brote de la enfermedad en Okinawa entre los nativos (Lewis y col., 1947) y el personal militar de los EE. UU. (Hodes y col., 1945; Sabin, 1947).

Morfología. Por ultracentrifugación y filtración se ha calculado que el tamaño del virus es de 20 a 30 mμ.

Cultivo. El virus puede desarrollarse en un medio que contenga cerebro de embrión de pollo desmenuzado (Kawakita, 1939) o en el huevo de gallina embrionado (Haagen y Crodel, 1938; Smith y Lennette, 1939; Howitt, 1946).

Resistencia. El virus se puede conservar en glicerina al 50 por ciento adicionada de un tampón durante tres meses, o por un año cuando se congela en un recipiente hermético con nieve carbónica.

Análisis antigénico. Los virus de San Luis, Nilo Occidental y encefalitis B. japonesa poseen antígenos comunes. Con excepción del virus X australiano, que quizá sea idéntico al virus B japonés, los otros se pueden diferenciar por análisis antigénico cuidadoso (Casals, 1944; Warren, 1946).

Infección espontánea en animales. Mitamura y colaboradores (1939) comunicaron la presencia del virus en la sangre de perros. Sabin (1947) encontró anticuerpos neutralizantes en los sueros de caballos, vacas y cabras, nativos de Okinawa, pero no en suero de las gallinas.

Infección experimental en animales de laboratorio. La inoculación intracerebral de material infectado a conejos, monos y ovejas origina una meningoencefalitis no supurada. Los conejos y cobayos son refractarios al virus inoculado de esta manera. Los caballos y cerdos inoculados intravenosamente mueren con encefalitis; se ha demostrado el virus en la sangre de los caballos tres y seis días después de la inoculación (Thomas y Peck, 1946; Meiklejohn y col., 1947). Hammon y col., (1946) demostraron que el virus persistía en la sangre de los pollos uno a siete días después de la inoculación.

Infección clínica en el hombre. Después de un *período de incubación* de seis a ocho días, la infección comienza con dolor de cabeza, fiebre alta y delirio, seguidos de coma y parálisis. Se han observado niños normales que se ponen gravemente enfermos mientras juegan y, en plazo de seis horas, presentan rigidez de nuca, disociación de los movimientos oculares y diversos signos neurológicos. Si el comienzo es agudo, el curso subsiguiente puede ser subagudo o crónico. Con frecuencia ocurren cambios mentales y de la personalidad. El cuadro anatomopatológico es similar al de la encefalomielitis de las ovejas conocida en Inglaterra como *louping ill* y el hallazgo histopatológico más saliente en la encefalitis B japonesa es la lesión de las células de Purkinje de la corteza cerebelosa (Zimmerman, 1946).

Transmisión. La encefalitis B japonesa semeja a la encefalitis de San Luis en que en ambas huésped y vector pueden ser diferentes según las regiones (Hammon y Reeves, 1945; Sabin, 1947). En todo caso, el aislamiento de virus de la encefalitis B japonesa en *Culex tritaeniorhynchus* y *Culex pipiens* var. *pallens* ha sido referido por Inada (1937) y Petrischeva y Shubladse (1940). Se ha demostrado que muchos otros mosquitos, incluyendo *C. quinquefasciatus*, son capaces de transmitir experimentalmente la infección. En el brote epidémico de Okinawa de 1945 no se aisló el virus de *C. quinquefasciatus* a pesar de que este mosquito se encontraba allí en grandes números antes de la epidemia y mientras ésta ocurría.

Productos biológicos. En 1942 se preparó una vacuna de cerebro de ratón; consistía en suspensión al 10 por ciento de cerebro de ratón inactivada por formaldehido (Sabin, 1943). Smorodintseff (1942) señaló la eficacia de una vacuna si-

milar. Más tarde, Warren y Hough (1946) y Smadel, Randall y Warren (1947) comunicaron haber preparado una vacuna contra la encefalitis B japonesa obtenida de embriones de pollo infectados. Esta vacuna, que se estabiliza por liofilización, es utilizada ahora por el Ejército de Estados Unidos. Tales vacunas son eficaces para estimular la producción de anticuerpos neutralizantes en el hombre y la resistencia a la infección en ratones (Sabin y col., 1943; Cox, 1948).

Diagnóstico. La impresión clínica puede confirmarse aislando el virus o demostrando la existencia de anticuerpos específicos en el suero del paciente. Los anticuerpos fijadores de complemento aparecen precozmente en la infección y también desaparecen pronto; los anticuerpos neutralizantes pueden persistir durante 5 años. Un alza significativa en el título de anticuerpos se considera como típica de la enfermedad. En Okinawa se observó que los sueros de los adultos normales contenían anticuerpos neutralizantes, pero rara vez anticuerpos fijadores de complemento (Thomas, citado por Lewis y col., 1947; Sabin, 1947).

No hay *tratamiento* específico para la encefalitis B japonesa, pero la quimioterapia y la terapéutica de sostenimiento ayudarán a disminuir la mortalidad.

La *prevención* se logra por vacunación y medidas rigurosas contra el mosquito.

ENCEFALOMIELITIS DE LAS OVEJAS
Louping ill

En las comarcas que se encuentran a lo largo de la frontera entre Inglaterra y Escocia, existe una encefalomielitis en las ovejas transmitida por garrapatas. La enfermedad, que ocurre en primavera y otoño, tiene en corderos y añojos una mortalidad aproximadamente de 50 por ciento. Los supervivientes suelen quedar inmunes.

Pool y sus colaboradores (1930) produjeron la enfermedad en ovejas y cerdos por inoculación intracerebral de emulsiones de tejido cerebral infectado. Gordon y colaboradores (1932) comprobaron que el virus estaba presente en la sangre durante el período febril de la infección y que ésta podía transmitirse a bovinos, monos y ratones.

La infección natural se transmite por la garrapata *Ixodes ricinus*. Los experimentos de filtración de Elford y Galloway (1933) indican que el virus tiene un tamaño de 15 a 20 mμ.

El virus semeja al de la poliomielitis en su afinidad por las células del asta anterior. Está relacionado antigénicamente con el virus que causa la enfermedad X australiana (Perdrau, 1936), pero no con los causantes de poliomielitis (Schwentker y col., 1933), encefalitis de San Luis o encefalitis B japonesa (Webster, 1937, 1938).

Han ocurrido infecciones accidentales en personal de laboratorio (Rivers y Schwentker, 1934).

ENCEFALITIS PRIMAVERO-ESTIVAL RUSA
Encefalitis de los leñadores, encefalitis primaveral,
encefalitis transmitida por garrapata

En ciertas áreas boscosas del norte de Rusia y Siberia, desde abril hasta julio aparece una encefalitis que no se pudo diferenciar de los demás tipos de encefalitis hasta 1935 (Chumakov y Seitlenok, 1940). La infección se transmite por la picadu-

ra de garrapatas infectadas (*Ixodes persulcatus* y otras) y se observa principalmente en el género humano entre varones que frecuentan las áreas infestadas de garrapatas en esta región. Silber, en 1939, señaló que el agente causal era un virus.

Morfología. Este virus mide alrededor de 20 mμ de tamaño, calculado por ultrafiltración.

Resistencia. El virus se puede conservar en glicerina al 50% adicionada de un tampón o manteniéndola a —70° C.

Análisis antigénico. No hay relación antigénica entre el virus causal de la encefalitis primavero-estival rusa y los que causan la encefalitis de San Luis y la encefalitis B. japonesa (Casals, 1944; Warren, 1946). Casals y Webster (1943) señalaron que el virus de la encefalitis primavero-estival rusa quizá sea idéntico al de la encefalomielitis de las ovejas, conocida en inglés como *Louping ill*, transmitido por una garrapata.

Infección espontánea en los animales. En las zonas endémicas se ha encontrado el virus en muestras de sangre recogidas de roedores como ratones silvestres, ratas, topos, hámsteres, ardillas de tierra, puercoespines y conejos (Solovief, 1939; Pavlovskii y Solovief, 1940). Tales animales infectados rara vez presentan síntomas de infección.

Infección experimental en animales de laboratorio. Las inoculaciones intracerebrales del virus a ratones causan encefalitis. El paso subsecuente del virus por inoculación intraperitoneal a ratones ocasiona regularmente la muerte del animal. Tal comportamiento distingue a este virus del de la encefalitis B japonesa y de otros virus productores de encefalitis, en los cuales las inyecciones intraperitoneales de virus pasado por ratón no causan la muerte.

Tipos clínicos de infección en el hombre. Después de un período de incubación de 8 a 18 días, siguientes a la picadura de una garrapata infectada, el paciente tiene un comienzo muy agudo de enfermedad, con dolor de cabeza y nuca, fiebre, náuseas, vómitos, vértigo y coma (Warren, 1946; Smorodintseff, 1939-1940). Las parálisis musculares, si aparecen, suelen hacerlo hacia el segundo o tercer día de enfermedad. El virus se encuentra en la sangre y líquido cefalorraquídeo durante la fase aguda de la afección (Warren, 1946). El líquido cefalorraquídeo presenta pleositosis de 40 a 200 células, la mayor parte de las cuales son linfocitos. Los síntomas agudos duran de dos a diez días; lo mortalidad es del 30 por ciento en pacientes no vacunados. Se pueden demostrar anticuerpos neutralizantes en el suero cosa de un mes después del comienzo de la enfermedad; persisten durante muchos años (Smorodintseff, 1939-1940). Aproximadamente el 20 por ciento de los pacientes quedan con trastornos neurológicos residuales, como parálisis y atrofia de los músculos de la nuca y la cintura escapular. Los estudios histopatológicos del tejido cerebral revelan infiltración perivascular de los vasos sanguíneos y alteraciones degenerativas de las neuronas del bulbo y medula espinal, que varían desde cromatolisis y pérdida de substancia de Nissel hasta necrosis completa y neuronofagia (Warren, 1946).

Transmisión. La infección se transmite por las garrapatas *Ixodes persulcatus, Dermacentor silvarum* y *Haemaphysalis concinna*, en las cuales el virus pasa por vía transovárica.

Productos biológicos. El Instituto de Epidemiología y Microbiología de Moscú ha preparado una vacuna eficaz de cerebro de ratón inactivada por formol. Se administra en dos dosis subcutáneas, con intervalo de una semana; se considera que conserva su poder antigénico por lo menos durante sesenta días (Smorodintseff, 1939-1940).

Tratamiento. Los investigadores rusos aconsejan la inyección intrarraquídea de suero de convalecientes humano (Smorodintseff, 1939-40).

Prevención. La encefalitis primavero-estival rusa es rara en zonas endémicas donde se han talado los bosques. El uso de la vacuna ha reducido grandemente la morbilidad y la mortalidad (Pervushin, 1943).

VIRUS DEL BOSQUE SEMLIKI

Smithburn y Haddow (1944) aislaron de los mosquitos *Aëdes abnormalis*, capturados en el bosque Semliki, un virus que mata a diversos animales de laboratorio. El virus es algo más pequeño que la mayor parte de los otros que causan encefalitis y sólo se puede identificar por estudios inmunológicos. Se han encontrado anticuerpos neutralizantes en sueros de los nativos que viven en esa región (Smithburn, Mahaffy y Haddow, 1944).

ENCEFALITIS DEL OESTE DEL NILO

Smithburn y sus colaboradores (1940) aislaron un virus de la sangre de una mujer africana enferma en el distrito oeste del Nilo. Las muestras de sueros humanos que contienen anticuerpos neutralizantes, recogidas en varios distritos, indican que el virus está ampliamente diseminado. Se puede transmitir experimentalmente por picadura de *Aëdes albopictus* infectado (Philip y Smadel, 1943).

ENCEFALITIS X AUSTRALIANA

En 1917-1918 se produjeron en Australia muchos casos de encefalitis con alta mortalidad. Una enfermedad similar ocurrió en Nueva Gales del Sur en 1922 y en 1926. Se comprobó que monos y ovejas, bóvidos y caballos eran susceptibles a las inoculaciones del virus. Aunque la enfermedad se parece clínicamente a la encefalitis B japonesa no se hicieron estudios comparativos, porque resultó imposible conservar el virus australiano (Perdrau, 1936).

Uno de los investigadores de laboratorio murió con síntomas de mielitis ascendente después de haber sido mordido en la mano por un mono aparentemente normal. En la autopsia se encontraron zonas de necrosis focal en las vísceras y se aisló un virus neurotrópico de cerebro, medula espinal y bazo del paciente (Sabin y Wright, 1934). Burnet y colaboradores (1939) y Sabin (1934) demostraron que los monos, conejos y cobayos son susceptibles a la infección. El virus se ha cultivado en huevo de gallina embrionado. Se encuentran con tanta frecuencia anticuerpos neutralizantes en los monos normales, que se ha pensado que la infección sea endémica en este animal.

ENCEFALITIS DE LA HYLEA AMAZONICA

Laemmert y Hughes (1947), mientras intentaban aislar el virus de la fiebre amarilla de mosquitos recogidos en el Brasil, publicaron el hallazgo en estos insectos de un virus neurotrópico mortal para los ratones. El virus se encontró en los mosquitos *Aëdes aegypti*, *Aëdes serratus* y *Psorophora ferox*.

Con excepción del virus del bosque Semliki, el cual no fué ensayado, no había similitud antigénica entre el virus de la encéfalomielitis equina, el virus del oeste del

Nilo ni los de la encefalitis de San Luis, encefalitis primavero-estival rusa, encefalomielitis de las ovejas *(louping ill)*, coriomeningitis linfocítica, encefalitis B japonesa y fiebre amarilla.

El personal de laboratorio que trabajaba con el virus desarrolló anticuerpos neutralizantes en suero, pero ninguno de ellos presentó signo alguno de enfermedad en ningún momento.

ENCEFALITIS POSTINFECCIOSA Y POSTVACUNAL

En 1872, Westphal describió una enfermedad inflamatoria y degenerativa del sistema nervioso central con el nombre de "encefalomielitis diseminada aguda". Ocasionalmente se han observado afecciones similares consecutivas a infecciones diversas, pero no se ha descubierto un factor etiológico específico. Desde 1924 esta alteración nerviosa ha merecido gran atención por el aumento relativamente repentino de la frecuencia de encéfalomielitis consecutiva a la vacunación contra la viruela en Holanda, Inglaterra y, en grado menor, en Estados Unidos. En la actualidad, se reconoce generalmente que algunas infecciones causadas por virus, y posiblemente algunas enfermedades bacterianas, pueden ir seguidas de trastorno inflamatorio y degenerativo del cerebro y medula espinal, caracterizado principalmente por *desmielinización de las fibras nerviosas* en las regiones próximas a los vasos sanguíneos, los ventrículos centrales y los espacios subaracnoideos. Las principales enfermedades con las cuales se relaciona esta afección son la viruela, la vacuna, la varicela, el sarampión, rubéola, paperas, rabia (vacunoterapia), influenza y moquillo canino. Si bien algunos casos ocurren sin infección precedente manifiesta, los datos de que disponemos bastan para justificar el agrupamiento de todos los casos de desmielinización perivascular en regiones del sistema nervioso central bajo el término de "encefalitis postinfecciosa".

La encefalitis postvacunal se trata con detalle porque, por diversas razones, constituye el ejemplo más importante de la afección.

En 1924, Lucksch, en Praga, dirigió su atención hacia las encefalitis consecutivas a vacunación contra la viruela y trató de la posibilidad de que existiese una encefalitis vacunal. A continuación, Bastiaanse (1925) describió un brote de la enfermedad en Holanda y se publicaron casos ocurridos en Inglaterra (Turnbull y McIntosh, 1926) y en Estados Unidos (Wilson, 1918).

El tiempo que transcurre entre la vacunación y el comienzo de los síntomas nerviosos suele ser de 10 a 13 días, si bien algunos casos han ocurrido antes de transcurridos diez días después de la vacunación y en el período comprendido entre los días 14º y 34º. La frecuencia según la edad ha variado, pero la mayor parte de los casos se han observado en niños de tres a ocho años. Esta mayor frecuencia entre niños de "edad escolar" sugiere una relación con las primeras vacunaciones.

Flexner (1930) se ha referido a las tres hipótesis que se han propuesto para explicar la aparición de encefalitis postinfecciosa: 1) la enfermedad puede ser debida a un virus neurotrópico; 2) el virus quizá ha activado a un segundo organismo que se encontraba en el cuerpo en estado latente; 3) la enfermedad puede ser manifestación de una reacción alérgica para el virus.

BIBLIOGRAFIA

Poliomielitis

Armstrong, C. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1939, 54:1719.
Aycock, W. L. *Virus and Rickettsial Diseases*, Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass., 1941, p. 555.

Aycock, W. L., and Kagan, J. R. *J. Immunol.*, 1927, 14:85.
——— and Kramer, S. D. *J. Prev. Med.*, 1930, 4:189, 201.
Bodian, D., and Howe, H. A. *Johns Hopkins Hosp. Bull.*, 1941, 68:248; 1941, 69:79, 86, 92, 135, 183.
Burnet, F. M., and Jackson, A. V. *Australian J. Exp. Biol. & Med. Sci.*, 1940, 18:361.
Flexner, S., and Lewis, P. A. *J.A.M.A.*, 1909, 53:1639, 2095.
Gard, S. *Acta Med. Scandinavica*, 1943, Supp. 143.
Heine, J. *Beobachtungen über hähmungszustände der untern Extremitäten und deren Behandlungen*, Stuttgart, 1840.
Howe, H. A., and Bodian, D. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1940, 43:718.
Jungeblut, C. W. *J. Immunol.*, 1933, 24:157.
——— *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1937, 37:160.
Kessel, J. F., Moore, F. J., Stimpert, F. D., and Fisk, R. T. *J. Exper. M.*, 1941, 74:601.
Knoepfelmacher, W. *Med. Klin.*, 1909, 5:1671.
Koprowski, H., Norton, T. W., and McDermott. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1947, 62:1476.
Landsteiner, K., and Popper, E. *Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. Exper. Therap.*, 1909, 2:377.
Langmuir, A. D. *Am. J. Pub. Health*, 1942, 32:275.
Leake, J. P. *J.A.M.A.*, 1935, 105:2152.
Leiner, C., and Von Weisner, R. *Wien. klin. Wchnschr.*, 1910, 23:91.
Lépine, P., Sedallian, P., and Sautter, U. *Bull. Acad. de Med. Paris*, 1939, 122:141.
McKinstry, D. W., and Reading, E. H. *J. Franklin Inst.*, 1944, 237:71.
Medin, O. *Verhandl. d. X. Internat. med. Cong.*, 1890, 2:Abt. 6, 37.
Melnick, J. L. *J. Immunol.*, 1944, 48:25.
——— and Penner, L. R. *J. Bacteriol.*, 1947, 54:279.
Milzer, A., Oppenheimer, F., and Levinson, S. O. *J.A.M.A.*, 1944, 125:704.
Morgan, I. M., and Olitsky, P. K. *Science*, 1943, 98:452.
Park, W. H. *J.A.M.A.*, 1932, 99:1050.
Paul, J. R., Trask, J. D., Bishop, M. B., Melnick, J. L., and Casey, A. E. *Science*, 1941, 94:395.
——— and Trask, J. D. *Am. J. Pub. Health*, 1942, 32:235.
Pearson, H. E., and Rendtorff, R. C. *Am. J. Hyg.*, 1945, 41:164.
Racker, E. *Science*, 1942, 96:364.
Sabin, A. B. *J. Mt. Sinai Hosp.*, 1944, 11:185.
——— *J.A.M.A.*, 1947, 134:749.
——— and Olitsky, P. K. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1936, 34:357.
——— and Ward, R. *J. Exper. M.*, 1941, 73:771.
——— and Ward, R. *Science*, 1941, 94:590; 1942, 95:169.
Strauss, I., and Huntoon, F. M. *N. Y. Med. J.*, 1910, 91:64.
Theiler, M., and Bauer, J. H. *J. Exper. M.*, 1934, 60:767.
Tisdale, F. F., Brown, A., Defries, R. D., Ross, M. A., Sellers, A. H. *Canad. Pub. Health J.*, 1937, 28:523.
Ward, R., Melnick, J. L., and Horstmann, D. M. *Science*, 1945, 101:491.
———, Horstmann, D. M., and Melnick, J. L. *J. Clin. Invest.*, 1946, 25:284.
Wickman, I. *Beiträge zur Kenntisse der Heine-Medinischen Krankheit*, Berlin, 1907.
Statiscal Bulletin. Metropolitan Life Ins. Co., 1947, 28:5.
Editorial. *New Eng. J. Med.*, 1948, 238:30.
Report of Inter. Committee for Study of Inf. Paral., Williams & Wilkins Co., Baltimore., 1932.

Rabia

Casals, J. *Ann. Int. Med.*, 1945, 23:74.
Ceccaldi, J., Paquier, P., Trinquier, E., Pellissier, A., and Vargues, R. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1947, 73:589.
Cornwall, J. W. *Brit. Med. J.*, 1923, 2:298.
Corwin, H. L., and Stice, L. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1947, 62:1215.
Dawson, J. R., Jr. *Science*, 1939, 89:300.
DiVestea, A., and Zagari, G. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1889, 3:237.
Duffy, C. E., Woolley, P. V., Jr., and Nolting, W. S. *J. Pediat.*, 1947, 31:440.
Galloway, I. A., and Elford, W. J. *J. Hyg.*, 1936, 36:532.
Galtier. *Compt. rend. Acad. Sc.*, 1879, 89:444.
Greenwood, Major. *Bulletin of the Health Organization League of Nations*, 1945-46, 12:301.
Habel, K. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1940, 55:1473; 1945, 60:545.
Horack, H. M. *Am. J. Med. Sci.*, 1939, 197:672.
Hutyra, H., and Marek, J. *Sp. Path. & Therap. of the Diseases of Domestic Animals*, 3rd Am. Edit., Chicago and London, 1926.
Johnson, H. N. *Illinois Med. J.*, 1942, 81:382.
——— *Proc. U. S. Livestock Sanitary Assoc.*, 1945, p. 99.

KELSER, R. A. *Virus and Rickettsial Diseases*, Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass., 1940. p. 655.
KLIGLER, I. J., and BERNHOFF, H. *Am. J. Hyg.*, 1941, 33 B, 1.
KOENIGSFELD, E. G. H. *J. Roy. Army Corps.*, 1945, 85:254.
LEECH, C. N. *Am. J. Pub. Health*, 1938, 28:162.
LEVINSON, S. O., MILZER, A., SHAUGHNESSY, H. S., NEAL, J. L., and OPPENHEIMER, F. *J. Immunol.*, 1945, 50:317.
——— MILZER, A., SHAUGHNESSY, H. S., NEAL, J. L., and OPPENHEIMER, F. *J.A.M.A.*, 1944, 125:531.
MEYER, K. F., and EDDIE, B. *J.A.M.A.*, 1947, 133:822.
NEGRI, A. *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, 1903, 43:507; 1903, 44:519.
PASTEUR, L. *Compt. rend. Acad. Sci.*, 1881, 92:1259; 1885, 101:765.
PLOTZ, H., and REAGAN, R. *Science*, 1942, 95:102.
REMLINGER, P. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, Suppl., 1927.
RICE, T. B., and BEATTY, N. *Am. J. Pub. Health*, 1928, 18:421.
RIFKIN, H., CEKADA, E. B., ZARROW, M., HENDERSON, D. G., and WHITEHEAD, J. O. *J. Lab. & Clin. Med.*, 1945, 30:748.
SANKARAN, G., and BEER, W. A. *Ind. J. Med. Res.*, 1935, 22:581.
SEMPLE, D. Scient. Mem. Officers Med. & Sanitation Depts., Govt. of India, Calcutta, 1911, No. 44.
SULKIN, S. E., and HARFORD, C. G. *Ann. Int. Med.*, 1943, 19:256.
WEBSTER, L. T., and DAWSON, J. R., JR. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1935, 32:570.
——— and CLOW, A. D. *J. Exper. M.*, 1937, 66:125.
WILLET, J. C., and SULKIN, S. E. *J. Am. Vet. Med. Assn.*, 1939, 95:659.
ZABLUDOVICH, S. *J.A.M.A.*, 1947, 133:430.
Bulletin. U. S. Army Medical Dept., 1948, 8:68.
Editorial. *New England J. Med.*, 1947, 237:828.

Seudorrabia

AUJESZKY, A. *Zbl. f. Bakteriol.*, 1902, 32:353.
REMLINGER, P., and BAILLY, J. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1934, 52:361.
ELFORD, W. J., and GALLOWAY, I. A. *J. Hyg.*, 1936, 36:536.

Coriomeningitis linfocítica

ARMSTRONG, C., and LILLIE, R. D. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1934, 49:1019.
——— and HORNIBROOK, J. W. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1941, 56:907.
——— *Bull. New York Acad. Med.*, 1941, 17:295.
BAIRD, R. D., and RIVERS, T. M. *Am. J. Pub. Health*, 1938, 28:47.
BENGTSON, I. A., and WOOLLEY, J. G. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1936, 51:29.
COGGESHALL, L. T. *Science*, 1939, 89:515.
FARMER, T. W., and JANEWAY, C. A. *Medicine*, 1942, 21:1.
FINDLAY, G. M., ALCOCK, N. S., and STERN, R. O. *Lancet*, 1936, 1:650.
HOWARD, M. E. *J. Infect. Dis.*, 1939, 64:66.
——— *Yale J. Biol. & Med.*, 1940, 13:161.
LÉPINE, P., SAUTTER, V., and KREIS, B. *Compt. rend. Soc. de Biol.*, 1937, 124:422.
MACCALLUM, F. O., and FINDLAY, G. M. *Lancet*, 1939, 1:1370.
——— *Brit. J. Exp. Path.*, 1940, 21:110.
MEYER, K. F. The Harvey Lectures, 1939-40, 35:91.
MILZER, A. *J. Infect. Dis.*, 1942, 70:152.
RIVERS, T. M., and SCOTT, T. F. M. *Science*, 1935, 81:439.
SMADEL, J. E., BAIRD, R. D., and WALL, M. J. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1939a, 40:71.
——— BAIRD, R. D., and WALL, M. J. *J. Exper. M.*, 1939b, 70:53.
——— and WALL, M. J. *J. Exper. M.*, 1940, 72:389.
SHAUGHNESSY, H. J., and MILZER, A. *Am. J. Pub. Health.*, 1939, 29:1103.
TRAUB, E. *J. Exper. M.*, 1936, 64:183.
WALLGREN, A. *Acta Pediat.*, 1925, 4:158.

Encefalitis epidémica

FRISCH, F. *J. Med. Soc. N. J.*, 1947, 44:6.
HALL, A. J. *Brit. Med. J.*, 1918, 2:461.
LEVADITI, C., and HARVIER, P. *Med. Sci.*, 1922, 7:247.
SMITH, H. F. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1921, 36:207.
VON ECONOMO, C. *Wien. klin. Wchnschr.*, 1917, 30:581.
WILSON, S. A. K. *Lancet*, 1918, 2:7.
Editorial. *J.A.M.A.*, 1919, 72:414.

Encefalitis de San Luis

BRODIE, M. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1934, 31:1227.
CASALS, J., and PALACIOS, R. *J. Exper. M.*, 1941, 74:409.
COX, H. R., and FITE, G. L. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1934, 31:499.
DUFFY, C. E. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1946, 63:333.
HAMMON, W. McD. *J.A.M.A.*, 1943, 121:560.
——— and REEVES, W. C. *Am. J. Pub. Health*, 1945, 35:994.
———, REEVES, W. C., CUNHA, R., ESPANA, C., and SATHER, G. *Science*, 1948, 107:92.
HARRISON, R. W., and MOORE, E. *Am. J. Path.*, 1937, 13:361.
LENNETTE, E. H. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1946, 61:206.
MUCKENFUSS, R. S., ARMSTRONG, C., and MCCORDOCK, H. A. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1933, 48:1341.
REEVES, W. C., HAMMON, W. McD., FURMAN, D. P., MCCLURE, H. E., and BROOKMAN, B. *Science*, 1947, 105:411.
SMITHBURN, K. C., and JACOBS, H. R. *J. Immunol.*, 1942, 44:9.
SYVERTON, J. T., and BERRY, G. P. *Science*, 1935, 82:596.
WEBSTER, L. T. *J. Exper. M.*, 1938, 67:609.
——— and FITE, G. L. *Science*, 1933, 78:463.
——— and FITE, G. L. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1933, 31:344.
———, FITE, G. L., and CLOW, A. D. *J. Exper. M.*, 1935, 62:827.
WOOLLEY, J. G. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1934, 49:1495.
Report. U. S. Pub. Health Bull., 1935, No. 214.

Encéfalomielitis equina

BEARD, J. W. *J. Immunol.*, 1948, 58:49.
———, FINKELSTEIN, H., SEALY, W. C., and WYCKOFF, R. W. G. *Science*, 1938, 87:490.
BECK, C. E., and WYCKOFF, R. W. G. *Science*, 1938, 38:530.
CASALS, J., CURNEN, E. C., and THOMAS, L. *J. Exper. M.*, 1943, 77;521.
COX, H. R., and OLITSKY, P. K. *J. Exper. M.*, 1936, 63:745.
FARBER, S., and BRANCH, C. *Arch. Path.*, 1939, 27:647.
FOTHERGILL, L. D., DINGLE, J. H., FARBER, S., and CONNERLEY, M. L. *New Eng. J. Med.*, 1938, 219:411.
GILTNER, L. T., and SHAHAN, M. S. *J. Am. Vet. Med. Assn.*, 1936, 88:363.
GRUNDEMANN, A. W., KITSELMAN, C. M., RODERICK, L. M., and SMITH, R. C. *J. Infect. Dis.*, 1943, 72:163.
HAMMON, W. McD., REEVES, W. C., CUNHA, R., ESPANA, C., and SATHER, G. *Science*, 1948, 107:92.
HIGBIE, E., and HOWITT, B. *J. Bacteriol.*, 1935, 29:399.
HOWITT, B. F. *Science*, 1938(a), 88:455.
——— *J. Infect. Dis.*, 1938(b), 63:269.
HURST, E. W. *J. Exper. M.*, 1934, 59:529.
KELSER, R. A. *J. Am. Vet. Med. Assn.*, 1933, 82:767.
MEYER, K. F. *North American Vet.*, 1933, 14:30.
———, HARING, C. M., and HOWITT, B. *Science*, 1931, 74:227.
——— *Ann. Int. Med.*, 1932-1933, 6:645.
REEVES, W. C., HAMMON, W. McD., FURMAN, D. P., MCCLURE, H. E., and BROOKMAN, B. *Science*, 1947, 105:41.
REMLINGER, P., and BAILLY, J. *Compt. rend. Soc. biol.*, 1936, 123:562.
SHAHAN, M. S., and GILTNER, L. T. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1934, 34:928.
SHARP, D. G., TAYLOR, A. R., BEARD, D., FINKELSTEIN, H., and BEARD, J. W. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1939, 42:790.
———, TAYLOR, A. R., BEARD, D., and BEARD, J. W. *Arch. Path.*, 1943, 36:167.
SYVERTON, J. T., and BERRY, G. P. *J. Bacteriol.*, 1937, 33:60.
TENBROECK, C. *Arch. Path.*, 1938, 25:759.
———, HURST, E. W., and TRAUB, E. *J. Exper. M.*, 1935, 62:677.
WEBSTER, L. T., and WRIGHT, F. H. *Science*. 1938, 38:305.
WHITMAN, L. *J. Immunol.*, 1947, 56:97.
ZICHIS, J., and SHAUGHNESSY, H. J. *J.A.M.A.*, 1940, 115:1071.

Encéfalomielitis equina venezolana

BECK, C. E., and WYCKOFF, R. W. G. *Science*, 1938, 38:530.
CASALS, J., CURNEN, E. C., and THOMAS, L. *J. Exper. M.*, 1943, 77:521.
KOPROWSKI, H., and COX, H. R. *New Eng. J. Med.*, 1947, 236:647.
KUBES, V., and RIOS, F. A. *Science*, 1939, 90:20.

Encefalitis B japonesa

CASALS, G. *J. Exp. M.*, 1944, 79:341.
COX, H. R. *Am. J. Pub. Health*, 1948, 38:351.
Epidemic Encephalitis, Third Report of the William J. Matheson Commission for Encephalitis Research, New York, Columbia University Press, 1939, p. 159.
GINDER, D. R., MAYUMOTO, M., SCHLESINGER, R. W., and SABIN, A. B. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1947, 65:130.
HAAGEN, E., and CRODEL, B. *Zentralbl. f. Bakt.*, 1938, 142:269.
HAMMON, W. McD., and REEVES, W. C. *Am. J. Pub. Health*, 1945, 35:994.
——— REEVES, W. C., BURROUGHS, R. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1946, 61:304.
HODES, HORACE L., THOMAS, LEWIS, and PECK, J. L. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1945, 60:220.
HOWITT, B. F. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1946, 62:105.
INADA, R. *Bull. Office internat. d'hyg. pub.*, 1937, 29:1389.
KANEKO, R., and AOKI, Y. *Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderh.*, 1928, 34:342.
KAWAKITA, Y. *Jap. J. Exp. Med.*, 1939, 17:211.
LEWIS, L., TAYLOR, H. G., SOREM, M. B., NORCROSS, J. W., KINDSVATTER, V. H. *Arch. Neurol. & Psych.*, 1947, 57:430.
MEIKLEJOHN, G., SIMPSON, T. W., STACY, I. B. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1947, 65:359.
MITAMURA, T., MAMADA, S., HAGATO, H., MORI, K., HOSOI, T., KITAOKA, M., WATANABE, S., OKUBO, K., and TENJIN, S. *Trans. Path. Soc. Jap.*, 1937, 27:573; 1939, 29:72.
PETRISCHEVA, P. A., and SHUBLADSE, A. K. *Arch. Dis. Sc. Biol.*, 1940, 59:72.
SABIN, A. B. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1947, 65:127.
——— *J.A.M.A.*, 1943, 122:477.
——— and DUFFY, C. E. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1947, 65:127.
———, DUFFY, C. E., WARREN, J., WARD, R., PECK, J. L., RUCHMAN, I. *J.A.M.A.*, 1943, 122:477.
———, GINDER, D. R., MAYUMOTO, M., and SCHLESINGER, R. W. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1947, 65:135.
——— SCHLESINGER, R. W., and GINDER, D. R. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1947, 65:183.
SMADEL, J. E., RANDALL, R., and WARREN, J. *Bull. U. S. Army Med. Dep.*, 1947, 7:963.
SMITH, M. G., and LENNETTE, E. H. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1939, 41:323.
TAKAKI, I. *I Mitteilung Z. Immunitäts Forsch.*, 1926, 47:441.
TANIGUCHI, T., HOSKOKAWA, M., KUGA, S., WADA, T., HASHIDA, S. *Jap. J. Exper. Med.*, 1936, 13:48.
THOMAS, L., and PECK, J. L. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1946, 61:5.
WARREN, J. *Am. J. Trop. Med.*, 1946, 26:417.
WARREN, J., and HOUGH, R. G. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1946, 61:109.
ZIMMERMAN, H. M. *Am. J. Path.*, 1946, 22:965.

Encéfalomielitis de las ovejas

ELFORD, W. J., GALLOWAY, I. A. *J. Path. & Bacteriol.*, 1933, 37:381.
GORDON, W. S., BROWNLEE, A., WILSON, D. R., and MACLEOD, J. *J. Comp. Path. & Therap.*, 1932, 45:106.
PERDRAU, J. R. *J. Path. & Bacteriol.*, 1936, 42:59.
POOL, W. A., BROWNLEE, A., and WILSON, D. R. *J. Comp. Path. & Therapy*, 1930, 43:253.
RIVERS, T. M., and SCHWENTKER, F. F. *J. Exper. M.*, 1934, 59:669.
SCHWENTKER, F. F., RIVERS, T. M., and FINKELSTEIN, M. H. *J. Exper. M.*, 1933, 57:955.
WEBSTER, L. T. *Science*, 1937, 86:402.
——— *J. Exper. M.*, 1938, 67:609.

Encefalitis primavero-estival rusa

CASALS, J., and WEBSTER, L. T. *Science*, 1943, 97:246.
——— *J. Exper. M.*, 1944, 79:341.
CHUMAKOV, M. P., and SEITLENOK, N. A. *Science*, 1940, 92:263.
PAVLOSKII, E. N., and SOLOVIEF, V. D. *Arch. Sci. Biol.*, 1940, 59:111.
PERVUSHIN, V. P. *Klinichesk. Med.*, 1943, 21:17.
SHUBLADSE, A. K., and SERDINKOVA, G. V. *Arch. Sci. Biol.*, 1939, 56:2.
SILBER, L. A. *Arch. Sci. Biol.* (Moscow), 1939, 56:9.
SMORODINTSEFF, A. *Arch. f. d. Ges. Virusforch.*, 1939-40, 1:468.
SOLOVIEF, V. D. *Arch. Sci. Biol.*, 1939, 56:132.
WARREN, J. *Am. J. Trop. Med.*, 1946, 26:417.

Virus del bosque Semliki

SMITHBURN, K. C., and HADDOW, A. J. *J. Immunol.*, 1944, 49:141.
———, MAHAFFY, A. F., and HADDOW, A. J. *J. Immunol.*, 1944, 49:159.

Encefalitis del oeste del Nilo

PHILIP, C. B., and SMADEL, J. E. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1943, 53:49.
SMITHBURN, K. C. *J. Immunol.*, 1942, 44:25.
——, HUGHES, T. P., BURKE, A. W., and PAUL, J. H. *Am. J. Trop. Med.*, 1940, 20:471.

Encefalitis X australiana

PERDRAU, J. R. *J. Path & Bacteriol.*, 1936, 42:59.

Virus B

BURNET, F. M., LUSH, D., and JACKSON, A. V. *Australian J. Exper. Biol. & Med. Sci.*, 1939, 17:35.
SABIN, A. B., and WRIGHT, A. M. *J. Exper. M.*, 1934, 59:115.
—— *Brit. J. Exper. Path.*, 1934, 15:321.

Encefalitis de la Hylea amazónica

LAEMMERT, H. W., JR., and HUGHES, T. P. *J. Immunol.*, 1947, 55:61.

Encefalitis postinfecciosa y postvacunal

BASTIAANSE, F. *Nederl. Tijdschr. v. Geneesk*, 1925, 69:1, 86.
FLEXNER, S. *J.A.M.A.*, 1930, 94:305.
LUCKSCH, F. *Med. Klin.*, 1924, 20:1170.
TURNBULL, H. M., and MCINTOSH, J. *Brit. J. Exper. Path.*, 1926, 7:181.
WILSON, S. A. K. *Lancet*, 1918, 2:7.

CAPITULO LXII

VIROSIS DE ANIMALES Y PLANTAS

Las enfermedades de las plantas y de los animales causadas por virus son numerosas y de extraordinaria importancia económica. Además, algunos de los virus de los animales son capaces de parasitar al hombre y de enfermarlo.

Las enfermedades causadas por virus están ampliamente distribuídas por el reino vegetal: muchas plantas, de valor particular para el hombre como alimento, pueden afectarse por varios de estos agentes. Los virus de especial interés para el hombre son aquellos que afectan a la planta del tabaco (mosaico y manchas anulares). la caña de azúcar (mosaico y clorosis) y la remolacha (rizo de las sumidades). Otros agentes infectan plantas de patata, tomates, frutales y flores.

La virosis de los animales constituyen reservorios para algunos de los virus que afectan al hombre. Muchos de estos huéspedes animales están ampliamente distribuídos y, como algunas aves (virus de la psitacosis), monos (virus de la fiebre amarilla) y murciélagos vampiros (virus de la rabia), aparecen en regiones tan alejadas entre sí que resultan difíciles de alcanzar y dominar. Además, algunos de los huéspedes más importantes son precisamente los animales domésticos. Los caballos, huéspedes naturales de la encefalomielitis equina, y algunas aves, que están protegidas por la ley y el afecto, constituyen reservorios de virus en estrecha relación con el hombre.

Los brotes epidémicos de psitacosis se pueden seguir usualmente hasta loros y pericos domésticos; cada año miles de personas deben someterse a una serie dolorosa de inmunización contra la rabia por causa de perros domésticos o extraviados. También el ratón blanco, tan útil en investigación médica, puede albergar el virus de la coriomeningitis, patógeno para el hombre.

Además de su importancia económica, subrayada repetidamente, las virosis de los animales han suministrado material para muchas investigaciones fundamentales sobre la naturaleza de los virus y las virosis en general. El virus de la vacuna, por ejemplo, estudiado principalmente en el conejo, ha sido el agente ensayado para muchas investigaciones fundamentales. Un capítulo importante en la investigación del cáncer se ha escrito a partir de estudios efectuados con virus protectores de tumores en las gallinas y el de la papilomatosis del conejo. La última enfermedad permite estudiar la posible significación etiológica de los virus en el cáncer en los mamíferos.

La susceptibilidad, tanto del hombre como de los animales, para el mismo virus resulta beneficiosa, ya que lo fundamental para estudiar un virus es disponer de un huésped de ensayo que no sea demasiado costoso ni difícil de vigilar. Tales animales son necesarios para demostrar la actividad del virus y hacer los numerosos estudios inmunológicos, epidemiológicos y anatomopatológicos tan importantes en la investigación de las virosis. La investigación de la poliomielitis ha sido entorpecida en gran parte por falta de un huésped animal adecuado: la investigación del cólera de los cerdos está limitada porque el virus es tan específico para estos animales. En esta última enfermedad se necesitarían por lo menos 25 cerdos para obtener una estimación razonable de la actividad del virus de una sola muestra de sangre. A los precios actuales, este experimento obligaría gastar unos 375 dólares, lo que hace prohibitivo

el uso de tales huéspedes. Los experimentos que requieren el uso de primates son aún más difíciles y costosos.

Mosaico del tabaco. El mosaico del tabaco es probablemente la virosis de las plantas mejor conocida por su importancia económica en el desarrollo del conocimiento de los virus. La enfermedad fué reconocida primero en 1857: en 1892, Iwanowski demostró que el agente infeccioso pasaba a través de filtros de tierra. Este hallazgo condujo al descubrimiento del grupo de agentes infecciosos conocidos ahora como virus filtrables. Por muchas razones, entre las que se incluyen la estabilidad del virus para resistir tratamientos físicos y químicos adversos, el agente ha sido estudiado extensamente. El virus del mosaico del tabaco fué también uno de los primeros agentes filtrables obtenidos en forma purificada. La purificación lograda al principio por fraccionamiento químico del jugo de las plantas enfermas (Stanley, 1935; Bawden, 1939), estimuló estudios análogos con muchos otros virus.

Este virus es un bastoncillo de 15 mμ de ancho y 280 mμ de largo, de composición química relativamente simple; se compone de 94 por ciento de proteína y 6 por ciento de ácido nucleico del tipo de la ribopentosa (Stanley, 1939; Bawden, 1939). El agente forma paracristales, como resultado de la disposición de los bastoncillos en un solo plano. Tuvo gran importancia el hallazgo de que el agente podría estudiarse con métodos ideados para investigación de las proteínas. El virus se puede obtener en grandes cantidades en estado puro; en consecuencia, se puede disponer de amplio material para muchos tipos de estudios. Se conocen muchas cepas diferentes de este agente y se producen variaciones y mutaciones (Stanley, 1943). El poder disponer de tales agentes suministra el material y las bases para el estudio de las relaciones entre constitución química y atributos biológicos.

Ictericia de los gusanos de seda. Esta enfermedad de la oruga del gusano de seda (Glaser, 1928; St. John-Brooks, 1930) se caracteriza por la aparición de placas en la piel del gusano, que pueden volverse edematosas, amarillentas y secas. La enfermedad ha sido extensamente estudiada por Von Prowazek (1913), quien comprobó su filtrabilidad y describió pequeñas manchas brillantes que se encontraban en gran número en la sangre y podían ser teñidas por el método de Giemsa. En los cortes de tejido, teñidos con el método de Levaditi, este autor encontró cuerpos similares en los núcleos de algunas células.

La ictericia de los gusanos de seda es una de las enfermedades poliédricas de los insectos. Los cuerpos poliédricos son inclusiones nucleares de tamaños que varían entre 0,5 μ y 15 μ; parece que se hallan constituídos por material proteínico, y no está demostrado que guarden relación con el agente infeccioso. Se cree que nacen por condensación de material cromatínico y su formación se ha estudiado en los cultivos de tejidos (Trager, 1935).

El agente infeccioso es probablemente uno de los virus más pequeños. Glaser y Wyckoff (1937) y Glaser y Stanley (1943) han intentado recientemente purificar el virus. Las microfotografías electrónicas de material activo revelan cuerpos esféricos de unas 10 mμ de diámetro, pero no se ha demostrado que estos cuerpos constituyan el virus. Cabe decir, sin embargo, que no se pudieron demostrar partículas de gran tamaño en cantidad que correspondiera a la de virus presente.

Enfermedad Newcastle de las gallinas (seudopeste aviar). Esta enfermedad de las aves de corral, caracterizada por neumonía y encéfalomielitis (Beaudette, 1943), se descubrió primero fuera de Estados Unidos, pero recientemente se ha extendido ampliamente. Aunque la mortalidad es poca en las aves adultas, la enfermedad debilita a los animales y disminuye la producción de huevos, lo cual constituye grave trastorno para el mercado.

El virus tiene forma de espermatozoide (fig. 157) y unas 700 mμ de longitud. Se desarrolló rápidamente en huevo embrionado y se encuentra en concentraciones altas en el líquido corioalantoideo de los embriones infectados (Burnet y Ferry, 1934); ha sido purificado parcialmente por ultracentrifugación (Cunha y col., 1947). La infección por este virus produce conjuntivitis leve en el hombre (Burnet, 1943).

Durante la guerra, Brandly y colaboradores (1946) y Jungherr y colaboradores (1946) investigaron intensamente la enfermedad Newcastle en Estados Unidos, con el propósito de producir vacunas. Tales vacunas, preparadas con embriones de pollo infectados, eran inactivadas con formol o luz ultravioleta; el primero dió las mejores vacunas. La inmunidad provocada por vacunas inactivadas duraba unos cuatro meses, era de mucha más duración después de curada una infección con virus activo.

Sarcoma aviar. Los sarcomas de las gallinas forman un grupo sobresaliente de virosis estudiadas por Rous y otros (Rous, 1935-36, 1943). La primera neoformación observada, *Tumor I* o *sarcoma de Rous*, era un sarcoma de células fusiformes que producía rápidamente metástasis y causaba la muerte del huésped. Se han descrito otras neoplasias de tipo histológico diverso, como un osteocondrosarcoma, un sarcoma de células fusiformes con grandes senos sanguíneos, y otros. Tales neoformaciones, no obstante su naturaleza infecciosa, poseen todos los caracteres definidos de las neoplasias malignas, como poder erosivo, formación de metástasis y muerte del huésped. Por tal motivo, el sarcoma de las gallinas, con el papiloma del conejo, han suministrado un campo fértil para investigación del cáncer, que está muy lejos de agotarse. Rous (1943) ha resumido en un artículo el estado de las investigaciones.

A pesar de lo mucho que se ha hecho en este campo, el conocimiento de las características del virus es fragmentario. Por filtración se le calcula un diámetro de 75-150 mμ; los resultados de la centrifugación permiten admitir que es de 60-70 mμ (Elford y Andrewes, 1935-36). Claude (1938) y otros han publicado los resultados de experimentos de purificación, pero es dudoso que lograran purificar el agente o que los resultados sean característicos del virus.

Leucemia aviar. La leucemia de las gallinas es una enfermedad análoga a las leucemias humanas. Esta afección, que Ellermann y Bang (1908) demostraron causada por un virus, puede presentarse en diversas formas; las diferencias probablemente dependen de variaciones en las cepas del virus. La leucemia puede ser de tipo mieloide, linfático o linfático intravascular; la última se caracteriza por acúmulo de células linfoides dentro de los vasos sanguíneos. Andersen y Bang (1928) describieron la histología de la enfermedad, estudiada cuidadosamente por Furth (1932, 33, 36). Nada se conoce del carácter del virus; Kabat y Furth (1940) hicieron estudios de ultracentrifugación con el agente, pero no se pudo demostrar que el material concentrado representara al virus.

Peste aviar. Esta enfermedad rápidamente mortal de gallinas, pavos y gansos, se caracteriza por debilidad, somnolencia y cianosis de la cresta o cresta negra. La muerte puede ocurrir en pocos días, o tardar una semana o más tiempo en venir. El virus se encuentra en la sangre, en relación más estrecha con los leucocitos que con el suero. Por experimentos de filtración se sabe que el virus mide 60 a 90 mμ de diámetro (Elford y Todd, 1933). El virus se puede cultivar en huevo embrionado (Burnet y Ferry, 1934).

Viruela aviar. Es una enfermedad de las gallinas caracterizada por nódulos verrugosas en la cresta, barbas y piel de la cabeza; puede haber lesiones, como formación de membranas en la boca y secreción mucopurulenta de ojos y nariz (Goodpasture, 1928; Hutyra, Marek y Manninger, 1938). La enfermedad en las aves no

vacunadas es altamente contagiosa y puede causar grandes pérdidas, pero se puede evitar poniendo en práctica las precauciones adecuadas. La vacunación se efectúa usando virus activo de viruela de las palomas, que tiene poca virulencia para las gallinas.

El virus de la viruela aviar ha sido uno de los favoritos para estudio; en el Capítulo LIII se describen los hallazgos obtenidos por Ledingham, Goodpasture y otros autores con los cuerpos de inclusión de esta enfermedad y en relación con el virus.

Glosopeda (Fiebre aftosa). Esta enfermedad ocurre principalmente en vacas, ovejas y cabras; más raramente en otros animales domésticos (Maitland, 1930; Hutyra, Marek y Manninger, 1938). Se caracteriza por la aparición de una erupción vesicular localizada en la mucosa de la boca y en la piel delicada que existe en las pezuñas.

En las hembras pueden aparecer erupciones similares en las ubres. Al comienzo de la erupción puede haber aumento de temperatura, aversión al alimento y depresión general. Por lo general, la enfermedad es leve; las vesículas forman pústulas y úlceras pequeñas. A veces se producen una gastroenteritis catarral o una inflamación de las vías respiratorias que ocasionan la muerte del animal. La enfermedad puede transmitirse de un animal a otro por medio del virus contenido en el líquido vesicular o por intermedio de la leche.

La enfermedad rara vez puede transmitirse al hombre. Tales infecciones humanas, por lo general muy leves, ocurren con mayor frecuencia entre los ordeñadores y lecheros, que se infectan por contacto directo.

El agente infeccioso es uno de los virus más pequeños. Los experimentos de filtración indican un diámetro medio de 8-12 mμ si la partícula es esférica (Galloway y Elford, 1933). La convalecencia es acompañada de inmunidad de grado variable. Se conocen diversas cepas del virus; la resistencia a una de ellas no indica necesariamente resistencia para otra. Pese a los esfuerzos realizados, no se ha logrado evitar la enfermedad por medidas profilácticas (Francis, 1948). El método de vacunación simultánea virus-suero no ha sido eficaz, pero el virus inactivado por el formol, obtenido de linfa y serosidad de las vesículas, promete dar buen resultado. Son mayores todavía las esperanzas que cabe fundar en una vacuna preparada por inactivación del virus en la sangre con cristal violeta. Los experimentos de Cabot (1945) han señalado que tal vacuna produce en el ganado bovino una inmunidad que dura seis meses. *

Cólera o peste de los cerdos. Esta es una virosis limitada al ganado porcino que causa pérdidas enormes en muchos países, incluyendo Estados Unidos. Se caracteriza por un curso agudo, con fiebre, neumonía, hemorragias petequiales en la piel, intestino, vejiga y riñón, infarto marginal del bazo y ulceración del intestino (Hutyra, Marek y Manninger, 1938). La mortalidad es alta; los animales que se recuperan, igual que los que quedan enfermos crónicamente, son inadmisibles en el mercado.

La enfermedad está causada por un virus filtrable de pequeño tamaño, probablemente no mayor de 25-30 mμ de diámetro. Los animales curados quedan inmunes para durante la vida. El virus es altamente específico para los cerdos, si bien se han referido infecciones de ovejas y recientemente parece que el virus se ha logrado inocular a los conejos' (Koprowski y col., 1946; Baker, 1946). La falta de un huésped pequeño para ensayo y las dificultades para el cultivo del virus fuera del huésped han impedido los estudios de prevención de la enfermedad y la producción de vacunas profilácticas.

* La experiencia reciente de México parece señalar el éxito de la vacunación. (N. del T.)

La vacunación se practica extensamente en Estados Unidos, a base del método *simultáneo* virus-suero (Francis, 1948). El virus activo contenido en la sangre de los cerdos infectados se inyecta en un sitio del animal y en otro lugar se introduce el suero inmune de cerdos hiperinmunizados. Si la inmunización se efectúa en debida forma, con material bien valorado y en animales en buen estado, el método ofrece grandes promesas para lograr la protección. Sin embargo, como en toda vacunación con virus activos, puede cometerse un *error* que dé lugar a la diseminación de la enfermedad. Mejores perspectivas ofrece una vacuna de virus inactivado con cristal violeta.

Morriña. La enfermedad de los bóvidos conocida en Francia como *peste bovina* ha sido durante siglos un serio azote económico (Hutyra, Marek y Manninger, 1938). Clínicamente se caracteriza por estado catarral de la mucosa nasal, con fiebre, infección conjuntival, diarrea profusa y emaciación rápida. Los animales mueren al décimo o duodécimo día. Los hallazgos de autopsia, según Nicolle y Adil-Bey (1899, 1901-02), son congestión, a veces ulceración de las mucosas nasal y bucal, e inflamación intestinal grave con alteraciones de los folículos linfáticos que no difieren de las de la fiebre tifoidea. El estado del hígado es particularmente característico. Koch (1897) comprobó que la enfermedad podía transmitirse de animal a animal con mínimas cantidades de sangre. El virus también se encuentra en las secreciones y el contenido intestinales. Estudios experimentales cuidadosos de esta enfermedad fueron llevados a cabo por Kolle y Turner (1898). Un hecho curioso observado por Kolle y Turner, así como por Nicolle y Adil-Bey, es que la sangre no pierde en infecciosidad ni en altas diluciones. Los experimentos de filtración no dan resultados uniformes; sin embargo, Nicolle y Adil-Bey lograron obtener filtrados positivos por métodos diversos, siempre con dilución muy alta del virus. Los mejores resultados los obtuvieron cuando filtraron y diluyeron el líquido de lavados peritoneales de animales inyectados intraperitonealmente. La filtración directa de la sangre no dió resultado positivo. Los animales que curan de la morriña tienen una inmunidad sólida y duradera; se han hecho muchos intentos para preparar vacunas eficaces (Commission, 1946; Francis, 1948). La administración simultánea de suero y virus activo, como en el cólera de los cerdos, proporciona alto grado de inmunidad durable, pero este medio de vacunación es costoso y los materiales son difíciles de valorar. Las vacunas inactivadas por el formol provocan inmunidad que dura 9 a 12 meses. El uso de cultivos de virus atenuado en la cabra ha dado resultados prometedores.

Papilomatosis. En muchos animales, como vacas, conejos, perros, peces y otros (Findlay, 1930), aparecen papilomas de formas y tamaños diversos. Los más importantes desde el punto de vista económico son las grandes y pequeñas verrugas epidérmicas de los bóvidos (Creech, 1929). Estas neoformaciones, que producen orificios en los cueros y disminuyen su valor comercial, se presentan también en las ubres de las vacas lecheras y ocasionan dificultades para el ordeño. Los papilomas epidérmicos se presentan en los perros alrededor de la boca; los orales que aparecen en la mucosa de la boca causan dificultades a los cachorros (DeMonbreun y Goodpasture, 1932).

El papiloma del conejo se encuentra frecuentemente en los conejos americanos del Oeste y, a veces, en la liebre americana. El virus causal se puede extraer de estas verrugas; la enfermedad se puede transferir a los conejos domésticos (Shope, 1933). En estos animales, y a veces también en los conejos americanos, la neoformación llega a ser carcinomatosa, ocasionando erosión de los tejidos y metástasis (Rous, 1935-36, 1943). Estas verrugas y la relación de los virus con el cáncer han sido estudiadas por Rous y sus colaboradores.

El virus de la papilomatosis del conejo ha sido purificado y se han determinado algunas de sus propiedades químicas, físicas y morfológicas (Beard, 1948). Estos hallazgos se han descrito en el Capítulo LIII. Poco se sabe acerca de la naturaleza de los virus que causan papiloma en perros y vacas. No hay relación inmunológica entre los agentes que causan verrugas en el hombre, los bóvidos y los conejos (Beard y Kidd, 1936).

Moquillo de los perros (virus de Carré). El moquillo de los perros afecta más comúnmente a los animales jóvenes, pero son susceptibles otros miembros del orden *Carnivora*, como la comadreja, hurón, visón, zorrillo, cuatí, perro salvaje de Australia, zorro, coyote, lobo y binturongo (Goss, 1948). El hombre, con otros muchos animales, no es sensible al virus. El tipo de lesión producida es diverso según la especie. En los perros, la enfermedad se caracteriza por fiebre, secreción catarral purulenta de las vías respiratorias, diarrea y, a veces, síntomas nerviosos por encefalitis. Por su alta infecciosidad, el moquillo causa graves pérdidas en criaderos de perros y zorros. La enfermedad se disemina por contacto con las secreciones y evacuaciones infectantes. Los animales enfermos son muy susceptibles a infecciones bacterianas secundarias con organismos de las vías respiratorias, principalmente *H. bronchisepticus*.

Carré, en 1905, demostró que el agente del moquillo era filtrable. En 1928 Laidlaw y Dunkin estudiaron la enfermedad y resolvieron muchos de los problemas concernientes a su etiología. El virus, que se encuentra en la sangre de los perros durante el período inicial y en las secreciones catarrales de las vías respiratorias, se puede desarrollar en cultivos de tejido. Se destruye a 58° C. durante 20 minutos y se inactiva por la desecación lenta. Se pueden encontrar cuerpos de inclusión intracitoplásmicos e intranucleares ampliamente diseminados por los diversos tejidos, pero son más abundantes en las células epiteliales del aparato respiratorio y de las vías urinarias. El diagnóstico rápido se puede establecer demostrando cuerpos de inclusión en la nariz, vegija o tráquea (Green y Evans, 1939). La inmunización profiláctica se practica con una vacuna hecha de vasos y ganglios linfáticos mesentéricos de perros infectados. El suero de perro inmune es útil para tratar la enfermedad cuando se da precozmente; se puede usar para la profilaxis pues proporciona inmunidad pasiva. Kelser (1940) cree que un suero homólogo de perro inmunizado artificialmente es el mejor suero antimoquillo.

Enteritis de los gatos *(Panleucopenia, Agranulocytosis, Moquillo de los gatos, Peste de los gatos)*. La existencia de un virus productor de esta enfermedad ha sido comprobada por Finlay y Hindle (1932) y Leasure, Lienhardt y Taberner (1934). La enfermedad, que sólo ataca a gatos y cuatís, es muy contagiosa; se caracteriza por estornudos, tos y secreción nasal. Los ratones inoculados por vía intranasal mueren en 48 a 72 horas. El virus, que es relativamente grande, se inactiva por el calor y la glicerina. En los cortes del pulmón se encuentran cuerpos de inclusión intranucleares (Hammon y Enders, 1939) y en el suero de gato convaleciente se encuentran anticuerpos fijadores de complemento.

Encefalitis de los zorros. Es una enfermedad común del zorro plateado norteamericano (Green y Schillinger, 1934), coyote (Green y col., 1934) y cuatí (Green, Evans y Yanamura, 1943). Durante muchos años se confundió la infección con el moquillo canino; las epizootias de la enfermedad tendían a producirse cuando los animales se congregaban en cautividad. En tales circunstancias la enfermedad aparecía repentinamente, se diseminaba con rapidez y remitía en plazo de un mes. Se caracteriza por comienzo brusco con cuadro de virosis generalizada que afecta particularmente a las células endoteliales de los pequeños vasos sanguíneos. Los

síntomas subsiguientes son referibles al cerebro y medula espinal. El carácter esencial es la hemorragia, que aparece por lesión del sistema vascular como resultado de la degeneración celular.

La *transmisión* de la enfermedad se efectúa por medio de las secreciones de las vías respiratorias altas; se ha obtenido el virus de lavados nasales tanto de animales enfermos como de animales aparentemente sanos en contacto con ellos. Los animales susceptibles sucumben rápidamente. Los anticuerpos se pueden demostrar en el suero de los que curan; se han preparado antisueros para inmunización pasiva. Se han usado vacunas hechas con virus inactivados para producir inmunidad activa. La inmunidad natural parece ser el factor más importante que rige la mortalidad. La *serovacunación* produce una infección retardada; los animales enferman unas cuatro semanas después de la vacunación. La *lucha contra la enfermedad* descansa en la obtención de inmunidad pasiva por inyecciones sucesivas de antisueros y segregación de los animales. El *diagnóstico* diferencial debe establecerse con el moquillo canino; a pesar de lo similares que son estas dos enfermedades clínicamente, tienen grandes diferencias histopatológicas y serológicas. La encefalitis de los zorros es esencialmente una enfermedad de las células endoteliales; los cuerpos de inclusión intranuclear se ven con facilidad. En el moquillo, el virus invade las células de origen epitelial y los cuerpos de inclusión son intracitoplásmicos. Zorrillo y visón son susceptibles al virus del moquillo, pero no al de la encefalitis del zorro. La inoculación de la cámara anterior del ojo constituye un método fácil para identificar el virus de la encefalitis del zorro y establecer la susceptibilidad a la infección (Evans y col., 1943). El suero hiperinmune permite hacer tratamiento eficaz de la encefalitis de los zorros.

Ectromelia infecciosa. Esta es una enfermedad gravísima de los ratones. Se presenta como infección aguda, caracterizada por lesiones viscerales o como proceso crónico que origina inflamación y necrosis de las patas. El virus causante de esta enfermedad mide 200 a 300 mμ de diámetro; se puede ver al microscopio en el hígado y en la piel. Se inactiva a 60° C. en 30 minutos; resiste a la glicerina y a la refrigeración (Barnard y Elford, 1931). Se ha cultivado en cultivos de tejido y en la membrana corioalantoidea de huevos embrionados (Paschen, 1936; Fenner, 1947).

Infección por virus III de los conejos. Rivers y Tillett (1923), trabajando con varicela experimental, obtuvieron un agente filtrable que inyectado a los conejos les producía una enfermedad caracterizada por fiebre alta y lesiones en testículos, piel y córnea. Una vez curados, los conejos ya no eran susceptibles a las inoculaciones subsecuentes. Se encontraron cuerpos de inclusión intranucleares acidófilos en las células epiteliales y endoteliales de los tejidos lesionados. Miller, Andrewes y Swift encontraron el mismo virus en 1924; ha sido encontrado también en tumores de conejos (Andrewes, 1940).

El virus se aisla mejor recurriendo al paso rápido por testículo de conejo; se destruye a 55° C. durante 10 minutos y resiste a la refrigeración, a la desecación y a la acción de la glicerina.

Miocarditis por virus. Fiedler, en 1899, describió el primero miocarditis "aisladas" en el hombre. Desde entonces se han observado muchos casos similares en el hombre y en animales. Helwig y Schmidt (1945) aislaron un virus de monos muertos de miocarditis intersticial, que producía lesiones miocárdicas en ratones. Más tarde, Schmidt (1948) aisló un virus del líquido torácico y esplénico de un chimpancé muerto de miocarditis intersticial. El virus producía miocarditis y encefalitis en ratones y hámsteres y miocarditis en los cobayos.

El virus es altamente neurótropo para los ratones (Warren y Smadel, 1946). La parálisis en los ratones semeja a la descrita por Theiler (1937); sin embargo, no hay relación inmunológica entre la encefalitis espontánea de los ratones de Theiler y el virus de la encéfalomiocarditis (Warren y Smadel, 1946). Los sueros obtenidos en las Filipinas de soldados que sufrían "fiebre de tres días" dieron pruebas positivas de neutralización para el virus (Smadel, 1947).

BIBLIOGRAFIA

Mosaico del tabaco

Bawden, F. C. *Plant Viruses and Virus Diseases*, Chronica Botanica Company, Leiden, 1939.
Iwanowski, D. *Bull. Acad. Imp. Sci.*, St. Petersburg, 1892, 3:67.
Stanley, W. M. *Science*, 1935, 81:644.
——— *Physiol. Rev.*, 1939, 19:524.
——— in *Virus Diseases*, Cornell University Press, Ithaca, 1943, p. 35.

Ictericia de los gusanos de seda

Glaser, R. W. En Rivers, T. M., *Filtrable Viruses*, Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1928, p. 279.
——— and Stanley, W. M. *J. Exper. M.*, 1943, 77:451.
——— and Wyckoff, R. W. G. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1937, 37:503.
St. John-Brooks, R., en *A System of Bacteriology in Relation to Medicine*, publicado por His Majesty's Stationery Office, London, 1930, 7: p. 54.
Trager, W. *J. Exper. M.*, 1935, 61:501.
von Prowazek, S. *Zbl. Bakt.*, Abt. I, Orig., 1913, 67:268.

Enfermedad Newcastle de las gallinas

Beaudette, F. R. Proc. Forty-Seventh Annual meeting of the United States Live Stock Sanitary Association, December 2, 3, 4, 1943, 122.
Brandly, C. A., Moses, H. E., Jones, E. E., and Jungherr, E. L. *Am. J. Vet. Res.*, 1946, 7:307.
———, Moses, H. E., and Jungherr, E. L. *Am. J. Vet. Res.*, 1946, 7:333.
———, Moses, H. E., Jungherr, E. L., and Jones, E. E. *Am. J. Vet. Res.*, 1946, 7:243; 1946, 7:289.
Burnet, F. M. *Med. J. Australia*, 1943, 2:313.
——— and Ferry, J. D. *Brit. J. Exper. Path.*, 1934, 15:56.
Cunha, R., Weil, M. L., Beard, D., Taylor, A. R., Sharp, D. G., and Beard, J. W. *J. Immunol.*, 1947, 55:69.
Jungherr, E. L., Tyzzer, E. E., Brandly, C. A., and Moses, H. E. *Am. J. Vet. Res.*, 1946, 7:250.

Sarcoma aviar

Claude, A. *Science*, 1938, 87:467.
Elford, W. J., and Andrewes, C. H. *Brit. J. Exper. Path.*, 1935, 16:61: 1936, 17:422.
Rous, P. The Harvey Lectures, 1935-36, 74.
——— *Virus Diseases*, Cornell Univ. Press, Ithaca, 1943, p. 147.

Leucemia aviar

Andersen, C. W., and Bang, O. *Festskrift*, Bernard Bang, Saertryk, 1928.
Ellerman, V., and Bang, O. *Centralbl. f. Bakt.*, Orig., 1908, 46:595.
Furth, J. *J. Exper. M.*, 1932, 55:465, 479, 495; 1933, 58:253.
——— *J. Bacteriol.*, 1936, 31:47.
Kabat, E. A., and Furth, J. *J. Exper. M.*, 1940, 71:55.

Peste aviar y viruela aviar

Burnet, F. M., and Ferry, J. D. *Brit. J. Exper. Path.*, 1934, 15:56
Elford, W. J., and Todd, C. *Brit. J. Exper. Path.*, 1933, 14:240.
Goodpasture, E. W. En Rivers, T. M., *Filterable Viruses*, Ballière, Tindall and Cox, London, 1928, p. 235.
Hutyra, F., Marek, J., and Manninger, R. *Special Pathology and Therapeutics of the Diseases of Domestic Animals*, Alexander Eger, Chicago, 1938.

Glosopeda

CABOT, D. A. E. *Vet. Rec.*, 1945, 57:375.
FRANCIS, J. *Lancet*, 1948, 1:377.
GALLOWAY, I. A., and ELFORD, W. J. *Brit. J. Exper. Path.*, 1933, 14:400.
HUTYRA, F., MAREK, J., and MANNINGER, R. *Special Pathology and Therapeutics of the Diseases of Domestic Animals*, Alexander Eger, Chicago, 1938.
MAITLAND, H. B. En *A System of Bacteriology in Relation to Medicine*, publicado por His Majesty's Stationery Office, London, 1930, 7:60.

Cólera o peste de los cerdos

BAKER, J. A. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1946, 63:183.
FRANCIS, J. *Lancet*, 1948, 1:377.
HUTYRA, F., MAREK, J., and MANNINGER, R. *Special Pathology and Therapeutics of the Diseases of Domestic Animals*, Alexander Eger, Chicago, 1938.
KOPROWSKI, H., JAMES, T. R., and COX, H. R. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1946, 63:178.

Morriña

FRANCIS, J. *Lancet*, 1948, 1:377.
HUTYRA, F., MAREK, J., and MANNINGER, R. *Special Pathology and Therapeutics of the Diseases of Domestic Animals*, Alexander Eger, Chicago, 1938.
KOCH, R. *Centralbl. f. Bakt.*, I Abt., 1897, 21:526.
KOLLE, W., and TURNER, G. *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, 1898, 29:309.
NICOLLE, M., and ADIL-BEY. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1899, 13:237; 1901, 15:715; 1902, 16:56.
Commission, Joint United States Canadian, *J. Vet. Res.*, 1946, 7:135, 142, 145, 152, 164, 170, 174, 179, 183, 189, 193, 196, 199, 212, 222, 228.

Papilomatosis

BEARD, J. W. *J. Immunol.*, 1948, 58:49.
——— and KIDD, J. G. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1936, 34:451.
CREECH, G. T. *J. Agr. Res.*, 1929, 39:723.
DE MONBREUN, W. A., and GOODPASTURE, E. W. *Am. J. Path.*, 1932, 8:43.
FINDLAY, G. M. En *A System of Bacteriology in Relation to Medicine*, publicado por His Majesty's Stationery Office, London, 1930, 7:252.
ROUS, P. The Harvey Lectures, 1935-36, 74:115.
——— The Messenger Lectures, Cornell Univ. Press, Ithaca, 1943, p. 147.
SHOPE, R. E. *J. Exper. M.*, 1933, 58:607.

Moquillo de los perros y enteritis de los gatos

CARRÉ, H. *C. R. Acad. Sci.*, 1905, 140:689, 1489.
FINLAY, G. H., and HINDLE, E. *J. Comp. Path. & Therap.*, 1932, 45:11.
GOSS, L. J. *Am. J. Vet. Res.*, 1948, 9:65.
GREEN, R. G., and EVANS, C. A. *Cornell Vet.*, 1939, 29:35.
HAMMON, W. D., and ENDERS, J. F. *J. Exper. M.*, 1939, 69:327.
KELSER, R. A. *Virus and Rickettsial Diseases*, Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass., 1940, page 517.
LAIDLAW, P. P., and DUNKIN, G. W. *J. Comp. Path. & Therap.*, 1928, 41:1, 209.
LEASURE, E. E., LIENHARDT, H. F., and TABERNER, F. R. *North Am. Vet.*, 1934, 15:30.

Encefalitis de los zorros

CHADDOCK, T. T. *Vet. Med.*, 1947, 42:475.
EVANS, C. A., YANAMURA, H. Y., and GREEN, R. G. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1943, 53:183.
GREEN, R. G. *Vet. Med.*, 1936, 31:527.
——— and SHILLINGER, J. E. *Am. J. Hyg.*, 1934, 19:362.
———, ZIEGLER, N. R., CARLSON, W. E., SHILLINGER, J. E., TYLER, S. H., and DEWEY, E. T. *Am. J. Hyg.*, 1934, 19:343.
——— EVANS, C. A., and YANAMURA, H. Y. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1943, 53:186.
STULBERG, C. S., and GREEN, R. G. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1947, 64:88.

Ectromelia infecciosa

BARNARD, J. E., and ELFORD, W. J. *Proc. Roy. Soc.*, London, 1931, 109:360.
FENNER, F. *Australian J. Exp. Biol. & Med. Sci.*, 1947, 25:327.
PASCHEN, E. *Zbl. Bakt.*, 1936, 135:445.

Infecciones por virus III de los conejos

ANDREWES, C. H. *J. Path. & Bacteriol.*, 1940, 50:227.
MILLER, C. P., JR., ANDREWES, C. H., and SWIFT, H. F. *J. Exper. M.*, 1924, 40:773.
RIVERS, T. M., and TILLETT, W. S. *J. Exper. M.*, 1923, 38:673.

Miocarditis por virus

FIEDLER, A. 1899 (Citado por Scott, R. W., and Saphir, O.) *Am. Heart J.*, 1929, 5:129.
HELWIG, F. C., and SCHMIDT, E. C. H. *Science*, 1945, 102:31.
SCHMIDT, E. C. H. *Am. J. Path.*, 1948, 24:97.
SMADEL, J. E. 1947, en Schmidt, 1948.
THEILER, M. *J. Exper. M.*, 1937, 65:705.
WARREN, J., and SMADEL, J. E. *J. Bacteriol.*, 1946, 51:615.

CAPITULO LXIII

BACTERIOFAGOS

Los bacteriófagos son agentes infecciosos que parasitan las bacterias. Al aumentar el conocimiento de estos agentes, especialmente en los últimos años, se ha hecho evidente que los bacteriófagos son análogos a los virus de las plantas y de los animales y deben clasificarse como virus bacterianos. Mientras que los virus de los vegetales superiores y de los animales se multiplican dentro de las células de organismos multicelulares, los bacteriófagos actúan sobre organismos bacterianos unicelulares aislados. Las propiedades químicas, físicas y morfológicas y algunos de los atributos biológicos de los bacteriófagos fueron descritos en el Capítulo LIII. Como los otros virus, los bacteriófagos sólo se multiplican en presencia de células vivas y probablemente en su interior. Los bacteriófagos tienen alto grado de especificidad para el huésped; algunos sólo atacan una cepa determinada de una especie bacteriana. Estos agentes no demuestran tener un metabolismo independiente del que corresponde al huésped vivo. El tamaño de los bacteriófagos se encuentra en el límite más bajo de los tamaños de los virus, esto es, desde unos 10 mμ hasta unos 200 mμ. En su composición, los bacteriófagos son similares a los virus animales; constan de proteína, ácido nucleico y lípido.

La existencia de los bacteriófagos fué descubierta primero por Twort, en 1915, e, independientemente, por d'Herelle, en 1917. El estudio de estos agentes, por lo tanto, data de algo más de 30 años. Twort, que estaba estudiando el virus de la vacuna, observó que algunas colonias de micrococos de sus placas tomaban aspecto vítreo y transparente y que una pequeña cantidad de este material, transferida a otra colonia, producía la misma alteración. En 1917, d'Herelle encontró que el filtrado de las evacuaciones fecales de un paciente convaleciente de disentería bacilar disolvía los cultivos jóvenes de *Sh. dysenteriae* y que este tipo de lisis era transmisible en serie. Después de estos descubrimientos iniciales, se ha comprobado que los bacteriófagos tienen acción frente a huéspedes ampliamente diseminados en el reino bacteriano. Los géneros para los cuales se han descubierto ya bacteriófagos son los siguientes: *Bacterium, Bacillus, Micrococcus, Corynebacterium, Vibrio* y *Actynomices*.

Pese al breve período transcurrido desde su descubrimiento, los bacteriófagos han sido estudiados ampliamente. En los primeros años hubo esperanzas de utilizar los virus bacterianos como agentes terapéuticos (Krueger y Scribner, 1941). Por diversas razones no se materializaron las esperanzas en esa dirección, y durante cierto tiempo decayó el interés por estos agentes. Recientemente, sin embargo, los bacteriófagos han recibido atención creciente en relación con el estudio de muchos problemas de la relación huésped-virus. Estos agentes ofrecen numerosas ventajas para tal trabajo. Se cultivan de manera fácil y económica en pequeñas o grandes cantidades; se pueden titular muy rápidamente y con relativa precisión; las condiciones para el estudio se pueden vigilar más estrechamente que en los casos en que se requieren tejidos complejos; y, finalmente, los huéspedes bacterianos y los virus se pueden examinar directamente con el microscopio electrónico.

Los numerosos experimentos hechos por d'Herelle y otros investigadores se han descrito en varios libros (d'Herelle, 1921, 1926, 1930). Bronfenbrenner (1928), Burnet (1934), Burnet, Keogh y Lush (1937), Elford (1938), Krueger y Scribner (1941), Delbrück (1942, 1945-46, 1946), Delbrück y Luria (1942), Luria y Delbrück (1942) y Craigie (1946) han publicado revisiones y artículos que tratan aspectos especiales del problema del bacteriófago. En el libro *Manual of Determinative Bacteriology* de Bergey se encuentra una clasificación útil de los bacteriófagos y extensa bibliografía.

Distribución. Los bacteriófagos, como parásitos obligados, dependen para su existencia de las células bacterianas. En consecuencia, la distribución de estos agentes es paralela a la de sus huéspedes específicos y los bacteriófagos se pueden encontrar dondequiera que se encuentren estos huéspedes. Los bacteriófagos para *E. coli* se encuentran en las heces humanas y en las alcantarillas; los tejidos infectados con *Staphylococcus* o con *Streptococcus* pueden contener bacteriófagos específicos para estos organismos. Las heces de caballo y cerdo casi siempre contienen bacteriófagos activos contra los bacilos disentéricos. El bacteriófago de *Staphylococcus* estudiado por Northrop (1938) fué aislado por Shope de las moscas caseras. Los bacteriófagos se encuentran también en el suelo y en la materia vegetal en descomposición; algunos son activos contra bacterias patógenas para las plantas (Coons y Kotila, 1925).

El número de bacteriófagos que se pueden diferenciar entre sí por diversos medios es enorme. Los criterios principales para la diferenciación son el carácter de las placas formadas, el tamaño de la partícula, las reacciones serológicas y, más recientemente, la morfología revelada por el microscopio electrónico. Ha sido difícil relacionar muchos de los hallazgos experimentales a causa de la compleja clasificación de estos agentes en diferentes partes del mundo. Sin embargo, se han hecho estudios sistemáticos de cierto número de grupos. Los fagos de los bacilos disentéricos fueron estudiados por Bail (1923), Morison (1932) y Burnet y McKie (1930). Los fagos del cólera fueron investigados por Asheshov y colaboradores (1930), y algunos de los fagos de salmonelas y estafilococos fueron estudiados por Burnet (1930 b). Se han clasificado alrededor de 50 cepas puras de fagos que lisan los disentéricos y colibacilos. Recientemente, se han hecho experimentos con el sistema T de bacteriófagos activos para una sola cepa (B) de *E. coli* (Demerec y Fano, 1945). De este grupo T_1 a T_7 han sido estudiados por varios investigadores. En los primeros estudios se emplearon otras designaciones para estos mismos agentes y la clasificación y las relaciones entre las terminologías antigua y moderna han sido descritas por Delbrück (1946). La designación T significa "tipo".

Reacciones huésped-fago. Podía suponerse que el efecto de un virus sobre una célula bacteriana aislada debía ser simple en comparación con la acción de otros virus sobre las células de plantas y animales. Gran parte de la complejidad de las virosis de los organismos superiores está relacionada con reacciones secundarias y con los efectos que tengan sobre el organismo en conjunto la muerte o la enfermedad de las células y los tejidos afectados. La experiencia ha demostrado que las relaciones entre huésped y bacteriófago son tan complejas como las existentes entre virus y células de las plantas y de los animales. Se recordará que los efectos de los virus sobre las células de las plantas y de los animales varía desde la necrosis rápida a la inducción de tumores en células infectadas por virus que viven y continúan proliferando a una velocidad mucho mayor que la de las células normales de las cuales derivaron. El grado de acción del bacteriófago es quizá menos limitado; se extiende desde la necrosis de las células bacterianas a un estado en el cual el fago se multiplica en simbiosis con la célula bacteriana sin causar alteración perceptible en ella.

La necrosis de la célula bacteriana se llama *lisis* o *bacteriólisis*. El efecto bacteriolítico de los fagos es característico de muchos de estos agentes; en condiciones adecuadas el fenómeno se demuestra fácilmente por varios métodos. Si se añade un preparado de fago a un cultivo joven del organismo huésped, la turbiedad del cultivo puede aumentar por algún tiempo, pero después se aclara rápidamente. La evolución de los fenómenos se puede observar con el microscopio. Durante algún tiempo después de mezclar el fago y las bacterias, éstas aparecen perfectamente normales observadas en portaobjetos. Después, en ocasiones, los organismos se hinchan y desaparecen repentinamente; se han roto o lisado sin dejar residuo visible. Este fenómeno de lisis masiva está condicionado por cierto número de factores que difícilmente podrían darse en la Naturaleza. El efecto lítico se observa mejor con cultivos jóvenes en desarrollo activo; las condiciones deben ser tales que los bacteriófagos tengan libre acceso a las bacterias. Tales condiciones serían difíciles de obtener en las heces o en los tejidos infectados o aun en los cultivos de tejidos contaminados con bacterias (Dresel y Lewis, 1930). En las condiciones que corresponden a la infección intestinal o de los tejidos, la lisis de las bacterias se puede estar produciendo de manera continua en escala restringida, pero no se ha observado que la administración de bacteriófago, con fines terapéuticos, modifique el curso de la enfermedad en animales de laboratorio (Krueger y Scribner, 1941).

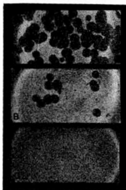


FIG. 166. PLACAS DE BACTERIÓFAGO EN CULTIVOS EN AGAR.

A. Placas grandes de bacteriófago T_7. *B.* Placas obtenidas con una mezcla de bacteriófagos T_2 y T_7. *C.* Placas pequeñas de bacteriófago T_2.

El fenómeno de la lisis se demuestra en forma muy expresiva con placas de bacterias en medio sólido. Si sobre una placa de agar se extiende una mezcla de gran cantidad de fago con una suspensión gruesa de bacterias, la superficie del agar puede permanecer enteramente clara. La mezcla de un pequeño número de fagos con la suspensión bacteriana dará un desarrollo en superficie con regiones claras o placas que difieren en tamaño y aspecto, según los fagos y los huéspedes. Demerec y Fano (1945) han publicado magníficas fotografías de tales placas, como las de la figura 166.

No todos los bacteriófagos causan lisis del huésped; huésped y virus pueden existir juntos y el huésped ser portador de virus. Tales bacterias son llamadas *lisogénicas*, ya que los filtrados de sus cultivos contienen el virus, el cual se puede demostrar por su capacidad para lisar cepas bacterianas sensibles o *indicadores*. El estado lisogénico se frecuente; Burnet (1932) descubrió 93 casos de lisogénesis en 124 cultivos de laboratorio de diversas cepas de *Salmonella*. Esta relación entre bacteriófagos y bacterias es análoga a la de algunos virus de plantas y sus huéspedes. En todas las variedades de patatas americanas se encuentran los virus que producen motas en este tubérculo; sin embargo, no presentan síntomas de enfermedad (Price, 1940). La curación de muchas enfermedades que sufren las plantas da lugar al desarrollo de un estado de inmunidad sin síntomas, aunque el virus permanezca en los tejidos de la planta. Debe recordarse que algunos

virus animales, el agente de la coriomeningitis linfocítica, por ejemplo, se pueden llevar sin síntomas en el huésped (Traub, 1936). La relación de los bacteriófagos con las variantes bacterianas resistentes descritas más abajo es un estado de lisogénesis.

Otro factor que gobierna la relación huésped-virus, tanto en los cultivos artificiales como en la Naturaleza, es la aparición en una población de bacterias sensibles, de mutantes o variantes bacterianas resistentes a la actividad del fago (Demerec y Fano, 1945). En los cultivos lisados en la forma descrita y conservados, suele producirse un enturbiamiento secundario por multiplicación de las bacterias resistentes. Normalmente es probable que en un cultivo que contenga mil millones de bacterias sensibles sólo se encuentren algunos cientos de tales bacterias resistentes (Delbrück, 1946); únicamente pueden llegar a predominar cuando las formas sensibles más abundantes sean lisadas por el bacteriófago. Cabe plantear la cuestión de si la acción del fago causa la mutación específica o si el fenómeno de lisis da lugar a una *selección* de la variante dada. Los estudios sobre el fago T_1 de *E. coli* han demostrado que estas mutaciones ocurren espontáneamente y que son descubiertas por la acción selectiva del fago (Luria y Delbrück, 1943). Las formas resistentes, sin embargo, no se reproducen puras en forma indefinida, y reaparecen formas sensibles en los cultivos repetidos de las bacterias resistentes en ausencia del fago. Las variantes seleccionadas por la acción del fago presentan diferencias no solamente de sensibilidad al fago sino también con respecto a otros diversos caracteres, que se modifican paralelamente. Por esta razón la acción selectiva del fago es un método muy aprovechable para obtener muchas clases diferentes de mutantes de las bacterias (Delbrück, 1945-46).

La selección de células bacterianas resistentes de un cultivo por un fago determinado constituye también un método para diferenciar fagos individuales de un grupo que ataca a un huésped. Un mutante bacteriano resistente seleccionado por un fago dado no es necesariamente resistente a otros fagos; por medio de pruebas de resistencia cruzada, con uno o más mutantes bacterianos, se pueden separar y clasificar diferentes fagos. Esta resistencia cruzada se puede utilizar no solamente para diferenciación de los virus, sino también para distinguir y clasificar cepas de *S. typhosa* (Craigie y Yen, 1938) y otros organismos (Craigie, 1946). Burnet y McKie (1933) estudiaron la inmunidad y la resistencia cruzada con unos 50 fagos del grupo colidisentérico; se han hecho estudios similares con siete de los fagos de la cepa B de *E. coli* (Demerec y Fano, 1945; Delbrück, 1946). Mientras, según Burnet y McKie, los agrupamientos obtenidos por resistencia cruzada concordaban bastante bien con la clasificación serológica, no sucedió así con los fagos T, como se indicará luego. No se conoce el mecanismo que condicione la resistencia, pero Anderson (1944) ha encontrado diferencias entre las variantes resistentes a los virus y las bacterias normales con respecto a la acción de factores de desarrollo.

La relación huésped-virus en la lisogénesis no está bien comprendida. Esta relación, cualquiera que sea su naturaleza, es íntima. Virus y célula bacteriana se multiplican juntos en el cultivo y los esfuerzos para separar el virus de su huésped son inútiles. Toda circunstancia que destruye el virus destruye asimismo al huésped. En el caso de bacterias esporuladas, el virus acompaña a las esporas y su resistencia a la destrucción es la misma que la resistencia de las mismas esporas. El virus puede conservarse a través de una serie de variaciones ampliamente diferentes en el huésped sin alteración en el fago (Burnet y McKie, 1929). Poco se sabe acerca del desarrollo del virus y su liberación en la lisogénesis. Las bacterias de cultivos de *B. megatherium* que contienen fago se pueden lavar, pero cada célula lavada es aún

portadora del virus. El virus libre alcanza títulos de 10^9 en los cultivos del microorganismo, y las células bacterianas lavadas adsorben el virus que ellas liberan (Delbrück, 1946). El virus se multiplica en condiciones adecuadas para el desarrollo de la bacteria huésped. El virus multiplicado se desprende en alguna forma de la bacteria, sin lisis manifiesta del huésped.

Multiplicación del fago. Los estudios sobre multiplicación del bacteriófago han contribuído en parte al conocimiento del comportamiento de los virus logrado en los últimos años. Solamente en unos pocos casos ha sido posible hacer investigaciones análogas con los virus de las plantas y de los animales, pero los resultados con bacteriófagos constituyen una base para el trabajo subsiguiente sobre otros virus.

Cuando se añade bacteriófago a cultivos de bacterias sensibles ocurre la lisis de las bacterias, y en condiciones adecuadas, el bacteriófago aumenta en cantidad. El agente se puede reproducir en serie indefinidamente en tales cultivos, formándose cantidades relativamente enormes de nuevo fago. Se conocen algunos datos de este mecanismo y de las relaciones huésped-virus que conducen a este resultado.

El fenómeno se puede ilustrar por los hallazgos con el bacteriófago T_1 (Delbrück y Luria, 1942). El bacteriófago añadido al cultivo bacteriano se adsorbe rápidamente en la superficie bacteriana de la manera como se muestra para el fago T_2 en la microfotografía electrónica de la figura 162. La adsorción ocurre solamente entre fago y huéspedes específicos; con fagos muy activos la acción se completa en pocos minutos, alrededor de cinco con el fago T_1. El huésped adsorbe también las partículas de virus inactivado. Una sola célula bacteriana puede adsorber gran número de partículas de fago, hasta unas 200.

Se han investigado las relaciones cuantitativas entre el número de partículas de fago formadas por cada célula bacteriana. Se han empleado dos métodos; con una técnica, se determinó el número de partículas formadas en asociación con una bacteria aislada; con otro método se hicieron estudios del promedio de partículas formadas por bacteria. El primer método fué utilizado por Burnet (1929). Se mezclaron bacterias y fago en diluciones adecuadas y se dejó la mezcla durante cinco minutos para que la adsorción tuviera lugar. Se hicieron entonces diluciones seriadas del material hasta que la dilución final contuviera un promedio de media bacteria por gota. Después se colocó una gota de esta dilución en cada uno de cierto número de tubos que contenían medio de cultivo. De este modo alguno de los tubos contenía una sola bacteria portadora de fago, y otro no contenía bacterias. Después del período necesario para la lisis se determinó por titulación el número de partículas de fago en cada tubo. Por este medio se encontró que el número de partículas formado por una célula bacteriana aislada variaba grandemente, de 20 a 1 000 en los estudios de Delbrück (1945).

La otra técnica consiste en estudiar curvas de desarrollo *completas*, como hicieron Ellis y Delbrück (1939) y Delbrück y Luria (1942). Se mezclaron bacterias y fagos. Después se dejó permanecer la mezcla tiempo suficiente para que tuviera lugar la adsorción y se hicieron diluciones de la suspensión en gran volumen para prevenir la adsorción adicional de virus en las bacterias. En la mezcla diluída se hicieron titulaciones con intervalos frecuentes. Se comprobó que para cada fago, en condiciones constantes, había un período de reproducción preciso, definido, el *período constante*, durante el cual la cantidad de fago permanecía inalterada. Al final de este período se observó otro, el *período de alza*, durante el cual el fago aumenta rápidamente. Después el recuento de placas alcanzaba cierto nivel y se hacía constante. Sabiendo cuántas bacterias estaban presentes inicialmente y descontando el número de partículas de virus añadidas originalmente pero no adsorbidas, se compu-

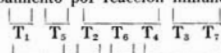
tó el promedio de partículas de fago formado por cada bacteria. Este número, llamado *volumen de ruptura*, es de unas 180 partículas de fago T_1 por bacteria. Los volúmenes de ruptura para otros fagos del sistema T fueron alrededor de 300, excepto el número para el T_2 que fué alrededor de 120.

El período latente o constante que ocurría antes de aparecer nuevo fago variaba grandemente para los diferentes elementos del grupo T. Para T_3 y T_7 fué de 13 minutos, para T_5 de 40 minutos. Los períodos latentes pudieron hacerse variar experimentalmente; en general, los cambios en la duración del período de latencia para un fago dado eran paralelos a los cambios en la velocidad de desarrollo de las bacterias; por ejemplo, los debidos a elevaciones o descensos de temperatura. Sin embargo, tal variación no siempre guardó relación con la velocidad de crecimiento bacteriano, ya que el desarrollo de las bacterias se pudo alterar por medios diferentes sin alteración del período latente del bacteriófago. Ni el período latente ni el volumen de ruptura dependieron del número de partículas de fago adsorbidas sobre una bacteria aislada.

Interferencia o efecto de exclusión del bacteriófago. El fenómeno de interferencia, según se describe en el Capítulo LIII, se observó primero con virus de plantas y después con virus causantes de enfermedad en animales. Con los bacteriófagos se observó el fenómeno en 1942 por Delbrück y Luria; ha sido estudiado extensamente con el sistema de agentes T (Luria y Delbrück, 1942; Delbrück, 1945, 1946). Los experimentos iniciales se hicieron para saber qué sucedería cuando una sola célula bacteriana se infectara por dos bacteriófagos diferentes. Se prepararon mezclas de los fagos T_1 y T_2 y se añadieron a preparaciones del huésped común, *E. coli*. No se vió diferencia entre la velocidad de adsorción de los dos virus cuando estaban juntos o cuando se estudiaron separadamente. Sin embargo, solamente el virus T_2 se multiplicó; el T_1 fué excluído por completo del proceso de multiplicación. Tal resultado se observó siempre, a menos que el T_1 se añadiera a las bacterias más de cuatro minutos antes de la adición de T_2. El mismo resultado se observó después de inactivar T_2 con luz ultravioleta. Tal efecto de exclusión se observó con una docena de pares de virus. En algunos casos, como con T_1 y T_7, ningún virus dominó sobre el otro, pero nunca se observó que una bacteria dada liberara ambas clases de fago. Esto se observó tanto si los individuos de la pareja estaban relacionados serológicamente como en caso contrario. En algunas ocasiones se observó un *efecto depresor;* por ejemplo, el volumen de ruptura de T_1 en una mezcla con T_7 pudo ser menor que si T_1 fuera el único agente infeccioso presente (Delbrück, 1945). Otro efecto fué la producción de mutantes de un virus debido a la acción depresora de otro (Delbrück, 1945-46).

Poder antigénico. La mayor parte de los bacteriófagos son buenos antígenos; cuando se inyectan a conejos u otros animales producen cuerpos de inmunidad. Las reacciones fago-anticuerpo son en esencia similares a las observadas con otros sistemas antígeno-anticuerpo. Como con los otros virus, los antisueros específicos poseen la capacidad de neutralizar o inactivar la actividad del fago; cuando se mezclan en proporciones adecuadas con él, causan aglutinación y precipitación de los elementos reaccionantes. La especificidad serológica es muy constante en los bacteriófagos; las reacciones serológicas revelan agrupamientos e individuos aislados entre los agentes que actúan sobre los mismos huéspedes o huéspedes afines. En ningún caso los bacteriófagos están relacionados serológicamente con la bacteria huésped.

Ejemplo de los resultados obtenidos son los estudios sobre miembros del sistema T de fagos de *E. coli*. En este grupo las relaciones entre los individuos son como sigue (Demerec y Fano, 1945; Delbrück, 1946):



Por la reacción inmunológica, T_1 y T_5 no guardan relación el uno con el otro ni con los otros miembros del grupo. T_2, T_6 y T_4 están relacionados antigénicamente uno con otro y lo mismo T_3 y T_7. Es de interés que estas diferencias y similitudes tienen paralelo en la morfología de los agentes. T_2, T_6 y T_4 tienen forma de raqueta y son morfológicamente idénticos. T_3 y T_7 son esféricos, de unas 45 mμ de diámetro y no tienen colas. T_1 y T_5 tienen colas, pero las cabezas son esféricas y de muy diferente tamaño.

Es interesante comparar el agrupamiento por reacciones serológicas con el agrupamiento según resistencia cruzada. Las relaciones indicadas por las dos propiedades no corresponden, indicando que la resistencia cruzada no proporciona base para demostrar las relaciones naturales entre los fagos.

La neutralización de bacteriófagos con sueros inmunes es como la de otros virus con sus sueros inmunes específicos. La unión del bacteriófago con el antisuero no es reversible, pero el virus no se destruye. Kalmanson y Bronfenbrenner (1943) han recuperado fago activo por digestión de la mezcla virus-antisuero con papaína. Cuando se mezcla suero inmune con fago, se reduce el número de partículas activas según se determina por titulación; la reducción es proporcional a la potencia del antisuero. Este no tiene acción sobre virus adsorbidos o que se hallan en el interior de la célula bacteriana, efecto protector de la célula que se observa con los virus animales. La presencia del antisuero inhibe vigorosamente la adsorción del virus sobre la célula bacteriana. Las partículas residuales de fago, no totalmente inactivadas por el suero, son adsorbidas sobre las bacterias a la velocidad corriente y se multiplican como si el suero no estuviera presente. El virus inactivado por suero inmune, en contraste con los virus inactivados por luz ultravioleta, no toma parte en el fenómeno de la interferencia.

Las reacciones serológicas son de gran valor para estudiar el desarrollo del fago. La titulación de virus individuales en una mezcla se puede efectuar usando un antisuero específico para suprimir uno u otro. Las reacciones de aglutinación se pueden efectuar con antisuero y partículas de fago, si las últimas están en concentración suficiente (Burnet, Keogh y Lush, 1937). También se puede obtener una reacción de aglutinación con bacteriófago adsorbido sobre bacterias. Las bacterias muertas por el formol adsorben fuertemente al fago; estas bacterias recubiertas con fago reaccionan y aglutinan con el suero inmune antibacteriófago específico. La reacción de la bacteria con el suero inmune antibacteriano homólogo se reduce grandemente por la presencia del fago.

Variación y mutación. Los bacteriófagos sufren variaciones y mutaciones análogas a las que ocurren en los virus de las plantas y de los animales. En condiciones experimentales, como en el caso de organismos vivos, estas variaciones y mutaciones de los bacteriófagos ocurren espontáneamente. En condiciones naturales las mutaciones y variantes pueden ser reconocidas por accidentes, o se pueden seleccionar ciertas variaciones deliberadamente.

Desde hace muchos años se han conocido las variaciones en los bacteriófagos. Sertic en 1929 reconoció la presencia de una variante del bacteriófago de *E. coli* y aisló una "línea pura" de este fago que era capaz de lisar bacterias resistentes al

tipo normal de fago. Gratia (1936b) publicó una mutación o variación en un bacteriófago que lisaba *B. megatherium 36*, pero que también se multiplicaba en asociación con *B. megatherium 899* lisogénico. El bacteriófago resultante de la mutación, que aparecía en pequeño número en comparación con el de partículas de fago normal, poseía la capacidad de lisar ambas cepas de *B. megatherium*.

Burnet y Lush (1936) observaron la mutación espontánea de un fago, que estaban estudiando desde varios meses. El fago C de un coco blanco que había sido aislado de heces de roedores, causaba normalmente la aparición de un halo de organismos resistentes dentro de la placa. Después de algunos meses de trabajo con el fago vieron algunas placas sin halo y se encontró que esto era debido a una variante (C^1) del fago, que podía lisar todas las bacterias de la placa. Se pudo aislar la variante C^1 como cepa pura.

Luria (1945) ha seleccionado recientemente variantes o mutaciones de dos de los bacteriófagos del grupo T de *E. coli*. Ya indicamos que se pueden seleccionar variantes o mutaciones bacterianas por acción del bacteriófago. En el trabajo de Luria se sometió *E. coli* a la acción del fago T_2. Casi todas las bacterias fueron lisadas, pero algunas que eran resistentes al fago produjeron colonias sobre agar. Las colonias de estas bacterias resistentes resultantes de la mutación fueron aisladas y cultivadas, lográndose un cultivo de formas resistentes. Una suspensión de tal cultivo se trató con una preparación del fago T_2 y se sembró en agar. En algunos casos se vieron muy pocas placas de lisis y de ellas se pudo obtener una variante o mutación del T_2 que poseía la capacidad de lisar con regularidad a las bacterias resistentes a la cepa ordinaria del fago T_2. Se pudieron producir alteraciones similares en el fago T_1 por procedimientos análogos. Se pudo calcular que la variante del fago T_2 estaba presente en proporción aproximada de una partícula por 10^7 partículas del fago normal. La variante del fago T_2 difería de la cepa normal por su capacidad de lisar la forma resistente de *E. coli* y la facilidad con que el fago era adsorbido sobre el huésped resistente.

Estos cambios en los virus no causan alteración de sus propiedades antigénicas. Es de interés que la variación en T_1 lleva consigo una alteración en este virus enteramente distinta de la que ocurre en la variación de T_2. Así, por ejemplo, el mutante de T_1 que lisa las bacterias resistentes a T_1 normal no lisa las bacterias resistentes al fago T_2 normal, pero que sí son lisadas por el mutante de T_2.

Titulación. El recuento de partículas de fago activo en una preparación es una técnica ordinaria de importancia fundamental. Las partículas de fago activo se pueden contar por cierto número de métodos. Las técnicas principales usadas para el recuento de bacteriófagos son el método de la placa empleado por d'Herelle y el método de la actividad usado por Krueger. Los métodos de ensayo han sido tratados por Delbrück (1942).

El primer paso consiste en hacer diluciones seriadas de un preparado adecuado de fago. Para el método de la placa, la bacteria huésped se cultiva en agar inclinado. En el momento de la titulación, mientras las bacterias son fuertes y vigorosas, se recogen y con ellas se prepara una suspensión concentrada en medio líquido (Ellis y Delbrück, 1939). Se mezcla un volumen medido de la dilución adecuada del fago con un volumen medido de la suspensión bacteriana; la mezcla se deja en reposo durante cinco minutos. Entonces, se coloca un volumen medido de la mezcla sobre la superficie de una placa de agar y se extiende con una varilla de vidrio doblada en forma de triángulo o con otro objeto adecuado. Se incuba la placa y después de un tiempo aparecen zonas claras donde las partículas individuales de fago han causado lisis localizada. Generalmente se conoce la concentración aproximada del fago

y se utilizan diluciones que produzcan de 50 a 200 puntos de lisis por placa de cultivo. Se siembran varias placas vertiendo en cada una las diferentes diluciones; como el factor dilución es conocido, se puede calcular el número de partículas de fago de la preparación original. El número determinado por este método, no es muy exacto; los recuentos son bajos por los defectos de adsorción y otros factores. Una bacteria que adsorbe muchas partículas producirá una sola placa de lisis. Sin embargo, el recuento en placa bajo condiciones determinadas es proporcional al número de partículas de la preparación original.

El aspecto y el tiempo de formación de las placas varían considerablemente de un agente a otro. El fago T_7 de *E. coli*, por ejemplo, produce placas de gran tamaño y tan rápidamente que se pueden hacer los recuentos en cuatro horas. Tales placas se muestran en la figura 166a. Por otra parte, el fago T_2 forma placas pequeñas (fig. 166c) que se pueden contar en unas 18 horas. En la figura 166b se muestran dos clases diferentes de placas de lisis formadas sobre una sola placa de cultivo.

Como ya hemos observado, el suero específico inmune es útil para el recuento diferencial de fagos individuales en una mezcla. Otro método para contar el número de individuos en una mezcla que contenga dos fagos diferentes estriba en emplear un huésped resistente a la acción de uno de los fagos. Sembrando la placa con uno de los huéspedes se puede contar uno de los fagos; sembrando un huésped resistente al primero aparece en las placas el segundo virus.

Gratia (1936a) y Delbrück (1945-46) emplearon una técnica algo diferente usando el método de la placa. Las diluciones del fago y de la suspensión bacteriana se preparan como se ha dicho antes. La mezcla de bacterias y fago se hace de igual manera y después se suspende en agar fundido y se vierte sobre la superficie de una placa de agar, que se solidifica rápidamente y da una capa fina y lisa.

El método de la actividad de Krueger (1930) consiste en reunir diluciones adecuadas de preparados de bacteriófago y mezclar las diluciones con una suspensión tipo de células huéspedes sensibles.

La actividad se estima por el tiempo necesario para obtener una disminución determinada de la turbiedad causada por la lisis. El proceso es análogo al método del período de incubación para titular virus de poliomielitis y papiloma. Este método se considera que da resultados exactos (Delbrück, 1942).

La titulación también se puede lograr sembrando cultivos líquidos individuales con diluciones del fago y determinando el punto final de lisis. Este método, sin embargo, es engorroso y poco preciso.

Resumen acerca de la naturaleza del bacteriófago. Ninguna cuestión en virología ha sido más controvertida que la naturaleza de los bacteriófagos. Los primeros conceptos han sido enumerados con cierto detalle por Burnet (1930a). D'Herelle pensó que estos agentes eran microorganismos que vivían y se multiplicaban como otras formas unicelulares. Bordet consideró a los bacteriófagos como enzimas derivadas de las mismas células huéspedes. El concepto de los bacteriófagos como enzimas ha sido defendido con calor en la literatura durante la década pasada (Northrop, 1938; Kalmanson y Bronfenbrenner, 1939; Krueger y Scribner, 1941).

Queda aún por determinar la naturaleza biológica esencial del bacteriófago. Como ya se ha indicado en el Capítulo LIII y en este, se conocen bastantes caracteres morfológicos de estos agentes y se ha aprendido mucho de sus propiedades físicas y estructurales. No parece que existan criterios fundamentales, excepto el tipo de huésped atacado, para separar los bacteriófagos de los demás virus. En consecuencia, las bases para los conceptos actuales acerca del virus expuestas en el Capítulo LIII son aplicables a los bacteriófagos.

BIBLIOGRAFIA

ANDERSON, E. H. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, Washington, 1944, 30:397.
ASHESHOV, I. N., ASHESHOV, I., KHAN, S., and LAHIRI, M. N. *Ind. J. Med. Res.*, 1930, 17:971.
BAIL, O. *Zeit. Imm.*, 1923, 38:57.
BERGEY'S *Manual of Determinative Bacteriology*, Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1948, 6th ed.
BRONFENBRENNER, J. J., in Rivers, T. M., *Filtrable Viruses*, Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1928, p. 373.
BURNET, F. M. *Brit. J. Exper. Path.*, 1929, 10:109.
—— in *A System of Bacteriology in Relation to Medicine*. published by His Majesty's Stationery Office, London, 1930a, 7: p. 463.
—— *J. Path. & Bacteriol.*, 1930b, 33:647; 1932, 35:851.
—— *Biol. Rev.*, 1934, 9:332.
——, KEOGH, E. V., and LUSH, D. *Australian J. Exper Biol. & Med. Sci.*, 1937, 15:227.
—— and LUSH, D. *Australian J. Exper. Biol. & Med. Sci.*, 1936, 14:27.
—— and MCKIE, M. *Australian J. Exper. Biol. & Med. Sci.*, 1929, 6:277.
—— *J. Path. & Bacteriol.*, 1930, 33:637; 1933, 36:299.
COONS, G. H., and KOTILA, J. E. *Phytopath.*, 1925, 15:357.
CRAIGIE, J. *Bacteriol. Rev.*, 1946, 10:73.
—— and YEN, C. H. *Can. Pub. Health J.*, 1938, 29:448, 484.
DELBRÜCK, M. *Adv. Enzymol.*, 1942, 2:1.
—— *J. Bacteriol.*, 1945, 50:151.
—— The Harvey Lectures, 1945-46, 161.
—— *Biol. Rev.*, 1946, 21:30.
—— and LURIA, S. E. *Arch. Biochem.*, 1942, 1:111.
DEMEREC, M., and FANO, U. *Genetics*, 1945, 30:119.
DRESEL, I., and LEWIS, M. R. *Am. J. Hyg.*, 1930, 11:189.
ELFORD, W. J., in Doerr, R., and Hallauer, C., *Handbuch der Virusforschung*. Erste Hälfte, Wien, Verlag von Julius Springer, 1938, p. 126.
ELLIS, E. L., and DELBRÜCK, M. *J. Gen. Physiol.*, 1939, 22:365.
GRATIA, A. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1936a, 57:652.
—— *Compt. rend. Soc. de biol.*, 1936b, 123:1253.
D'HERELLE, F. *Compt. rend. Acad. d. sc.*, 1917, 165:373.
—— *Le Bacteriophage, son rôle dans l'Immunité*. Masson et Cie. Paris. 1921. English trans., Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1922.
—— *The Bacteriophage and its Behavior*. Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1926.
—— *Bacteriophage and its Clinical Applications*, Charles C. Thomas, Springfield, 1930.
HERSHEY, A. D., KALMANSON, G. M., and BRONFENBRENNER, J. *J. Immunol.*, 1943, 46:267.
KALMANSON, G. M., and BRONFENBRENNER, J. *J. Gen. Physiol.*, 1939, 23:203.
—— *J. Immunol.*, 1943, 47:387.
KRUEGER, A. P. *J. Gen. Physiol.*, 1930, 13:557.
—— *Physiol. Rev.*, 1936, 16:129.
—— and SCRIBNER, E. J. *J.A.M.A.*, 1941, 116:2160.
LURIA, S. E. *Genetics*, 1945, 30:84.
—— and DELBRÜCK, M. *Arch. Biochem.*, 1942, 1:207.
—— *Genetics*, 1943, 28:491.
MORISON, J. *Bacteriophage in the Treatment and Prevention of Cholera*, Lewis and Co., London, 1932.
NORTHROP, J. H. *J. Gen. Physiol.*, 1938, 21:335.
PRICE, W. C. *Quart. Rev. Biol.*, 1940, 15:338.
SERTIC, V. *Compt. rend. Soc. de biol.*, 1929, 100:612.
TRAUB, E. *J. Exper. M.*, 1936, 63:533.
TWORT, F. W. *Lancet*, 1915, 2:1241.

PARTE VIII

MICOLOGIA MEDICA

CAPITULO LXIV

INTRODUCCION A LA MICOLOGIA MEDICA

Los hongos, como las bacterias, se hallan en todas partes. Muchas de las formas saprófitas desempeñan papel indispensable en las transformaciones cíclicas de la materia orgánica, no solamente en la descomposición de substancias, como hemicelulosas y ligninas, sino también en la síntesis de compuestos orgánicos complejos. Su importancia económica se puede ilustrar por los grandes volúmenes escritos sobre uso industrial de levaduras y mohos.

Los hongos son causa frecuente de enfermedad en las plantas, pero de los miles de especies conocidas menos de cincuenta son capaces de invadir al hombre o a los animales, y menos de una docena producen infecciones mortales. Es, además, una suerte que sólo unos pocos hongos, los *dermatófitos*, se puedan transmitir de hombre a hombre o de animal a hombre e iniciar epidemias.

Otro gran grupo de hongos pueden ser considerados endógenos, porque pueden ser albergados por el individuo normal, al parecer de la misma manera que los estafilococos, neumococos y meningococos. Varios de estos hongos producen una enfermedad gravísima, pero no se transmiten de paciente a paciente. Incluídos en este grupo están: *Actinomyces bovis, Candida albicans, Cryptococcus neoformans* y especies de *Geotrichum*. Los varones son atacados más frecuentemente que las hembras, pero nunca en proporción mayor de 3 a 1, en contraste con las infecciones causadas por hongos *exógenos*, que infectan al sexo masculino de 7 a 21 veces más frecuentemente que al femenino.

Los hongos *exógenos* se hallan en todas partes en la Naturaleza; los varones, por sus ocupaciones, se exponen con mayor frecuencia y más íntimamente a la infección que las mujeres. El grupo exógeno contiene muchos de los hongos más patógenos, como *Nocardia asteroides, Sporotrichum Schenckii, Blastomyces dermatitidis, Coccidioides immitis* e *Histoplasma capsulatum*. Donde hay fuentes concentradas de infección en el ambiente, como ocurre para *Coccidioides immitis* en ciertas regiones del suroeste de EE. UU. (Smith, 1943), *Histoplasma capsulatum* en el valle del Mississippi (Palmer, 1945) y *Sporotrichum Schenckii* en ciertas minas de oro en Sudáfrica (Du Toit, 1942), hasta el 50 al 80 por ciento de la población tienen infecciones clínicas o, con mayor frecuencia, subclínicas. Ninguna de estas infecciones por hongos exógenos se transmite de hombre a hombre.

Las enfermedades producidas por los hongos patógenos semejan las causadas por *Mycobacterium tuberculosis* y *Myco. leprae* en que evolucionan lentamente, produciendo infecciones crónicas características que persisten durante semanas, meses y aun años. Los organismos se desarrollan lentamente en los tejidos, no producen *endotoxinas* ni *exotoxinas* y estimulan la producción de reacciones granulomatosas de evolución lenta. En la mayor parte de las micosis aparece un estado de *hipersensi-*

bilidad análogo al observado en la tuberculosis. Como resultado directo de esta hipersensibilidad suelen producirse lesiones como necrosis de los tejidos y formación de abscesos. Como resultado de las infecciones micóticas aparecen anticuerpos sensibilizantes, como aglutininas, precipitinas y fijadores del complemento.

Con excepción de *Actinomyces* y *Nocardia*, los hongos patógenos son mucho mayores que las bacterias y no es sorprendente que fuera un hongo el primer microorganismo que se demostró causa de enfermedad. Schoenlein (1839) publicó que el favus estaba causado por un hongo, más tarde denominado por Remak (1845) *Achorion Schoenleini*. En el mismo año, Längenbeck demostró hongos del tipo de las levaduras en las aftas. Los hongos de las tricofitosis fueron descritos por Gruby (1843) y Malmsten (1848) como *Microsporum Audouini* y *Trichophyton tonsurans*, respectivamente. En 1871, Harz describió la naturaleza micótica de la eczema marginada, causada por el hongo hoy llamado *Epidermophyton floccosum*.

La mayor parte de los hongos que causan enfermedad en el hombre y en los animales fueron aislados e identificados antes de 1900. El lento desarrollo de la micología médica, en contraste con la bacteriología médica, se puede atribuir, en parte, a la complejidad de los tipos morfológicos, pero en primer lugar a que los hongos no producen enfermedades epidémicas como lo hacen algunas de las bacterias, virus y rickettsias. Ahora que las principales enfermedades bacterianas, espiroquetosis, rickettsiosis y virosis han sido identificadas, los bacteriólogos están emprendiendo el estudio de los hongos patógenos.

Las supuestas dificultades de la micología médica son en gran parte psicológicas. La nomenclatura de la Micología no es ni más difícil ni más variable que la de la Bacteriología o de la Parasitología. Con algunas excepciones, todos los hongos patógenos para los animales y para el hombre crecen fácilmente en los medios simples de laboratorio, y sus notables variaciones de morfología microscópica y de colonias facilita más bien que dificulta su identificación y clasificación (Conant y col., 1944).

Clasificación. Los hongos pertenecen al grupo de las plantas conocidas como *Thallophyta*. Las talófitas son organismos rudimentarios cuyos elementos no están diferenciados en raíces, tallos y hojas.

Hay dos grandes divisiones de talófitas: 1) las *Algas*, que contienen clorofila, y 2) los *Hongos*, que carecen de ella. Las diversas clases incluídas entre los hongos se caracterizan como sigue:

A. Seudomicetos (falsos hongos)
- 1. Esquizomicetos—hongos que se reproducen por fisión; bacterias
  - *a. Actinomyces*
  - *b. Nocardia*
- 2. Mixomicetos—hongos plasmodiales; mohos viscosos

B. Eumicetos (hongos verdaderos)
- I. Micelio sin tabicaciones
  - 1. Ficomicetos—mohos del agua
    - *a. Mucor*
    - *b. Rhizopus*
- II. Micelio con tabicaciones
  - 1. Ascomicetos—esporas sexuales en ascas
    - *a.* Levaduras verdaderas
    - *b.* Formas filamentosas de alta organización
  - 2. Basidiomicetos—esporas sexuales sobre basidios
    - *a.* Setas
  - 3. Hongos imperfectos—tienen solamente esporas sexuales

En los esquizomicetos solamente los géneros *Actinomyces* y *Nocardia* tienen interés médico. Se cree que estas formas son intermedias entre las Eubacteriaceas (bacterias verdaderas) y los Eumicetos (hongos verdaderos). Son semejantes a las bacterias en cuanto a tamaño y morfología, pero muestran verdadera ramificación, característica de los hongos superiores. En los Mixomicetos no se conocen formas patógenas. La clase Ficomicetos contiene las levaduras del pan, bien conocidas, *Mucor* y *Rhizopus*, que en ocasiones se han aislado de materiales clínicos, pero que por lo general son contaminantes. Los únicos patógenos humanos que pertenecen a los Ascomicetos son *Monosporium apiospermum*, una de las causas de la maduromicosis y *Piedraia Hortai*, causa de la piedra negra. A estos hongos se les conoce un estado *perfecto* o fase de desarrollo que produce esporas en ascas. Si bien algunos miembros de los Basidiomicetos producen venenos que son extremadamente tóxicos para el hombre, ninguno de estos hongos da origen a una infección.

Casi todos los hongos patógenos para el hombre o los animales están clasificados entre los Hongos Imperfectos, llamados así porque no se les conocen estructuras perfectas altamente especializadas en la producción de esporas sexuales como se encuentran en otras clases. En los Imperfectos solamente se producen esporas asexuales. Tales esporas se forman a partir de los filamentos y sus mecanismos de desarrollo, tamaño, color y disposición se utilizan para la identificación. El tipo de colonia macroscópica aparecida en el cultivo permite también un agrupamiento en tipo levadura, tipo seudolevadura y tipo filamentoso. Observando el tipo de colonia macroscópica y la morfología microscópica (formas de las esporas), se pueden identificar fácilmente los hongos.

La colonia. La *colonia filamentosa* se compone de un entrelazado de filamentos ramificados. Al filamento individual se le llama *hifa* y a la masa colectiva de hifas se le llama el *micelio*. Al micelio que penetra en el substrato se le conoce como *micelio vegetativo*, mientras que el que se proyecta en el aire desde la superficie del substrato se llama el *micelio aéreo*. El micelio aéreo se designa, además, como *micelio reproductor* cuando produce esporas, las cuales, una vez libres, germinan y desarrollan otras colonias similares. A la planta entera se le designa el *talo*.

Un segundo tipo de colonia, el tipo *seudolevadura*, está compuesto de células ovales aisladas que se reproducen por gemación, pero además pueden verse células alargadas con yemas que permanecen adheridas formando así falsas hifas o *seudomicelios*. Tales colonias son características del género *Candida*.

El tercer tipo de colonia, el *tipo levadura*, se compone solamente de células productoras de yemas, ovales o redondas. Tales colonias, por su consistencia son del tipo bacteriano y características de las verdaderas levaduras. *Saccharomyces* y de *Cryptococcus*.

Esporas. Aunque si se transfieren fragmentos de hifas a medios frescos pueden germinar para producir nuevas colonias, los hongos se reproducen de manera característica por esporas definidas. Estas esporas, desarrolladas a partir de células especializadas en el micelio como resultado de fusiones nucleares, son llamadas *esporas sexuales;* las que derivan del micelio o de estructuras especializadas en el micelio, sin fusiones nucleares, son llamadas *esporas asexuales*.

Las *esporas sexuales* que se producen endógenamente en una estructura sacciforme, el *asca*, son llamadas *ascosporas;* los hongos que producen estas esporas están colocados entre los Ascomicetos. El tipo más simple de asca se encuentra entre las levaduras, en las cuales las células vegetativas ovales producen esporas internas, con fusión nuclear. La célula entonces se convierte en el asca y las esporas son designadas como ascosporas. Entre los hongos filamentosos, altamente organizados,

hay estructuras especializadas que encierran numerosas ascas, cada una con 8 ascosporas.

Las esporas sexuales desarrolladas exógenamente sobre una estructura especializada en forma de maza, el *basidio*, son llamadas *basidiosporas;* los hongos que las producen están colocados en los Basidiomicetos. Los basidios, con cuatro esporas adheridas, son estructuras características encontradas en las setas.

En los Ficomicetos se encuentran dos tipos de esporas sexuales. La *zigospora*, que se desarrolla como resultado de la fusión de dos células idénticas, y la *oospora*, producida por fusión de dos células desemejantes.

Las *esporas asexuales* derivadas directamente de la hifa original son llamadas *talosporas.* Tal tipo de espora se produce por la concentración de protoplasma en una célula de la hifa, que se agranda hasta llegar a ser mayor que las demás células de la hifa. Con el desarrollo de una pared protectora gruesa, la espora llega a ser muy resistente a las condiciones del ambiente. Tal espora se llama *clamidospora.* Todos los hongos producen clamidosporas en el micelio.

Las esporas producidas por fragmentación de las hifas en elementos cortos, oblongos o redondeados, son designadas *artrosporas.* Las especies del género *Geotrichum* y *Coccidioides immitis* se reproducen en cultivo por este tipo de talosporas.

Las esporas aparecidas por un proceso de gemación de las células vegetativas son designadas como *blastosporas.* Las levaduras, diversas especies de *Candida* y *Cryptococcus neoformans* se reproducen por este tipo de talospora.

Las esporas producidas endógenamente dentro de una estructura engrosada, el *esporangio*, en el extremo de una hifa (esporangióforo) son designadas en los Ficomicetos como *esporangiosporas.*

Las esporas desarrolladas a partir de estructuras de soporte especializadas en el micelio son llamadas *conidias* y dicha estructura de soporte es conocida como el *conidióforo.* Tales esporas se encuentran en todos los Hongos Imperfectos; el tipo de conidióforo y el tipo y disposición de los conidios, constituyen los caracteres morfológicos por los cuales se identifican estos hongos.

Métodos de estudio de los hongos. Los métodos generales de la Bacteriología son aplicables al estudio de los hongos en cuanto se refiere a las técnicas de cultivo. Todos los hongos, con excepción de *Actinomyces bovis*, pueden ser cultivados en los medios bacteriológicos corrientes en condiciones aerobias, tanto a temperatura de la habitación como en estufa. Como la mayor parte de los hongos son de crecimiento lento, los cultivos deben conservarse durante una o dos semanas; durante este período deben ser protegidos de la desecación.

El examen microscópico de los cultivos difiere algo de los métodos bacteriológicos corrientes. La identificación de los hongos se basa en el tipo de esporas producidas y la disposición de éstas en las hifas. Los frotis son completamente inútiles cuando se preparan como si fueran extensiones bacterianas sobre portaobjetos, ya que las paredes celulares son aplastadas y se altera la disposición de las estructuras diagnósticas. Las preparaciones deben hacerse con el mínimo posible de desorganización del hongo o por disección cuidadosa de partes del cultivo. Los cultivos pueden examinarse sin alterarlos colocando el tubo sobre la platina del microscopio y examinando el desarrollo en la parte superior del medio inclinado con objetivo de poco aumento. Pueden hacerse también numerosos tipos de preparaciones de cultivos para exámenes microscópicos; cultivos en célula (Henrici, 1947) y cultivos en portaobjetos (Conant y col., 1944). Se pueden hacer preparaciones microscópicas colocando una porción de la colonia en un medio de montaje sobre un portaobjetos, disgregándola cuidadosamente con agujas y cubriendo la preparación con un cubre-

objetos. Para este propósito se pueden usar el azul de lactofenol o la glicerina-eosina. Las colonias de levadura y seudolevadura se examinan mejor al microscopio emulsionando una pequeña porción del cultivo en una gota de agua, sobre portaobjetos, y cubriendo la preparación con un cubreobjetos.

Los materiales clínicos, como piel, pelos y uñas deben colocarse sobre un portaobjetos con solución de hidróxido potásico al 10 por ciento y cubrirse con un cubreobjetos. Tales preparaciones deben calentarse sobre una llama pequeña de mechero Bunsen y examinarse inmediatamente después. Los esputos, pus y otros exudados deben examinarse en *preparaciones en fresco;* es decir, entre porta y cubreobjetos, sin teñir, diafragmando la luz y a pequeño y gran aumento.

Para un estudio detallado de los hongos de importancia médica deben consultarse los siguientes textos de micología médica:

1. Almeida, F. P., de *Mycologia Medica*, Companhia Melhoramentos de São Paulo, Brazil, 1939.
2. Brumpt, E. *Précis de Parasitologie*, Vol. II, pages 1571-2070, 5th ed., Masson et cie, 1936.
3. Castellani, A. *Fungi and Fungus Diseases*, Am. Med. Assoc., Chicago, Illinois, 1927-28.
4. Conant, N. F., Martin D. S., Smith, D. T., Baker, R. D., and Callaway, J. L. *Manual of Clinical Mycology*, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1944.
5. Dodge, C. W. *Medical Mycology*, C. V. Mosby Co., St. Louis, 1935.
6. Henrici, A. T. (Skinner, C. E., Emmons, C. W., and Tsuchiya, H. M.). *Molds, Yeasts and Actinomyces*, John Wiley & Sons, Inc., 2nd ed., 1947.
7. Jacobson, H. P. *Fungus Diseases*, Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, 1932.
8. Lewis, G. M., and Hopper, M. E. *An Introduction to Medical Mycology*, The Year Book Publishers, Inc., 2nd ed., Chicago, 1943.
9. Sabouraud, R. *Maladies du Cuir Chevelu*. III. Les Maladies Cryptogamique, Les Teignes, Masson et Cie, Paris, 1910.
10. Swartz, J. H. *Elements of Medical Mycology*, Greene & Stratton, New York, 1943.

BIBLIOGRAFIA

Conant, N. F., Martin, D. S., Smith, D. T., Baker, R. D., and Callaway, J. L. *Manual of Clinical Mycology*, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1944.
Du Toit, C. J. *Proc. Transvaal Mine Med. Officers Ass.*, 1942, 22:111.
Gruby, M. *Compt. rend. Acad. Sci.*, 1843, 17:301.
Harz, C. O. *Bull. Soc. Imp. Nat. Moscou*, 1871, 44:88.
Henrici, A. T. *Molds. Yeasts and Actinomyces*, 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc., New York, 1947.
Längenbeck, B. *Neue Notizen Gebiete Natur-und Heilkunde* (Froriep), 1939, 12:145.
Malmsten, P. H. *Trans.* by F. C. H. Creplin. *Arch. f. Anat. u. Physiol., Wiss. Med.*, 1848, p. 1:19.
Palmer, C. E. *U. S. Public Health Rep.*, 1945, 60:513.
Remak, R. *Diagnostische und pathologische Untersuchungen*, Muscardine and Favus, 1845, 7:193.
Schoenlein, Prof. *Arch. f. Anat. u. Physiol., Wiss. Med.*, 1839, p. 82.
Smith, C. E. *Med. Clin. N. Am.*, 1943, 27:790.

CAPITULO LXV

ACTINOMICETOS Y ACTINOMICOSIS

Situados entre las bacterias verdaderas y las levaduras más complejas, hay un número de organismos patógenos que en la actualidad han sido colocados en el orden *Actinomycetales*. Las colonias de estos organismos tienen algunas semejanzas groseras con los hifomicetos; suelen ser secas, correosas y arrugadas, cubiertas a veces con una pelusa de micelios aéreos. Estos hongos semejantes a las levaduras están caracterizados por un *micelio delicado*, generalmente de menos de 1 μ de diámetro, por tanto, dentro de las dimensiones bacterianas. El micelio es tabicado y muestra tendencia neta a ramificarse. Las partes componentes del micelio suelen teñirse de manera desigual, pero no contiene núcleos reconocidos.

En las *actinomicetáceas*, los filamentos micelianos se fragmentan en formas bacilares y cocoides; algunas variedades, en condiciones especiales, desarrollan formas difteroides. Estas variedades, que son parásitos obligados anaerobios o microaerófilos, no ácidorresistentes, están colocados en el género *Actinomyces*, como *A. bovis*. Otras variedades saprófitas, pero también parásitos facultativos, aerobios, parcialmente ácidorresistentes o sin ácidorresistencia, están colocadas en el género *Nocardia*. Mientras hay diversas especies de *Nocardia* que pueden causar enfermedad en el hombre o en los animales, en el género *Actinomyces* sólo está *A. bovis*.

Las formas intermedias no patógenas pueden ser clasificadas según sus métodos de reproducción: por medio de conidias que, al producirse, forman una cadena en los extremos de las hifas *(Streptomyces)* o por medio de conidias producidas aisladamente en los extremos de conidióforos cortos *(Micromonospora)*. Se han propuesto muchas clasificaciones para el grupo, pero aun hay diferencias de opinión entre los investigadores, particularmente en lo que respecta a las relaciones filogénicas entre estos organismos. Algunos autores los consideran como hongos degradados, otros como el tronco primario del que han derivado las bacterias y los hongos y otros, en fin, prefieren llamarlos "bacterias superiores". Hay, sin embargo, acuerdo general en cuanto a un hecho: los actinomicetos ocupan una posición intermedia entre las bacterias y los hongos. La revisión reciente de la clasificación de estas formas rudimentarias por Waksman y Henrici (1943) ha logrado aceptación general y ha sido incluída en la sexta edición del *Manual* de Bergey (1948).

Clasificación de los Actinomicetales (Waksman y Henrici, 1943)

A. Micelio rudimentario o ausente. — Familia *Mycobacteriaceae* Chester.
  I. Organismos ácidorresistentes. — *Mycobacterium* Lehmann y Neumann.
B. Producen micelio verdadero.
  I. El micelio vegetativo se fragmenta en elementos bacilares o cocoides. — Familia *Actinomycetaceae* Buchanan.
    a. Anaerobios o microaerófilos, parásitos, no ácidorresistentes. — *Actinomyces* Harz.
    b. Aerobios, parcialmente ácidorresistentes o sin ácidorresistencia. — *Nocardia* Trevisan.

II. Micelio vegetativo que no se fragmenta en elementos bacilares o cocoides.
Familia *Streptomycetaceae* Waksman y Henrici.
a. Multiplicación por conidias y cadenas de hifas aéreas.
Streptomyces Waksman y Henrici.
b. Multiplicación por esporas terminales únicas sobre esporóforos cortos.
Micromonospora Orskov.

De los otros nombres genéricos que han sido aplicados a este grupo, *Leptothrix* (Kützing, 1843) fué usado al principio para las bacterias férricas, autotróficas, filamentosas, de vida libre, y no debería haber sido aplicado a los actinomicetos ni a los organismos grampositivos filamentosos, no ramificados, parásitos, que se encuentran con frecuencia en la boca del hombre (Rosebury y col., 1944). *Cladothrix, Streptothrix, Oöspora, Discomyces, Actinocladothrix, Proactinomyces* y *Cohnistreptothrix* son otros nombres genéricos, que por inútiles han sido desechados.

Los actinomicetos son de enorme importancia en la naturaleza. Se hallan en todas partes y son muy activos para producir cambios en la materia orgánica del suero, el agua y los cuerpos del hombre y de los animales. El bacteriólogo puede encontrar las formas saprófitas, *Streptomyces* y *Micromonospora*, como contaminantes en los medios de cultivo, como organismos no patógenos en las heces, en el esputo contaminado por saliva y en los exudados de lesiones cutáneas abiertas. Especies de *Streptomyces* han suministrado diversos antibióticos, de los cuales la estreptomicina es el más importante.*

Sólo la especie *Actinomyces bovis* es parásito obligado, causa de la *actinomicosis* del hombre y de los animales; diversas especies de *Nocardia* causan la *nocardiosis* (micetoma) del hombre y de los animales.

ACTINOMICOSIS

La actinomicosis, causada por *Actinomyces bovis*, es una infección crónica, supurativa o granulomatosa, caracterizada por la formación de abscesos y fístulas múltiples, y la aparición de masas de micelios entrelazados o *gránulos* en el pus y en los cortes de tejidos.

Harz (1877) fué el primero en describir *A. bovis* del material patológico obtenido de un caso de tumoraciones de la mandíbula en el ganado bovino y denominó a la infección actinomicosis. Israel (1878) describió casos humanos, y Ponfick (1882) demostró que los casos bovinos y humanos eran causados por el mismo organismo. Wolff e Israel (1891) obtuvieron cultivos puros de *A. bovis* de infecciones humanas y demostraron su poder patógeno por inoculación de animales. Como el hongo de Wolff-Israel sólo pudo ser cultivado por métodos microaerófilos y los cultivos repetidos por otros investigadores demostraron que esto era cierto para el microorganismo de la actinomicosis humana o bovina (Wright, 1905), el microaerófilo *A. bovis* ha quedado como agente causal de la enfermedad. Bostroem (1891), sin embargo, señaló una especie aerobia de *Actinomyces* como causa de infecciones en el ganado vacuno. Como se sabe que tales especies se hallan en todas partes y causan constantes molestias como contaminantes, no se ha atribuído gran valor a los aislamientos de Bostroem.

Morfología. *Actinomyces bovis* es un hongo filamentoso, grampositivo, estrechamente relacionado con las bacterias verdaderas. En los tejidos, el hongo forma colonias organizadas o gránulos compuestos de filamentos densamente entrelazados, de 1 μ o menos de diámetro (fig. 167, 168). Los extremos de los filamentos, en la

* También la aureomicina y la cloromicetina han sido obtenidas de especies de *Streptomyces*. (N. del T.)

periferia del gránulo, pueden estar encerrados en una vaina de material gelatinoso. En los cortes de tejidos teñidos con hematoxilina y eosina los filamentos se coloran

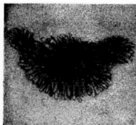


FIG. 167.

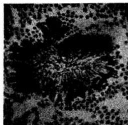


FIG. 168.

FIG. 167. RACIMO DE MAZAS DE ACTINOMYCES DE UN GRÁNULO DE AZUFRE. (De Kolle y Hetsch.)

FIG. 168. GRÁNULO ACTINOMICÓTICO DEL PUS, TEÑIDO PARA MOSTRAR EL MICELIO. (De Kolle y Hetsch.)

por la hematoxilina, y las vainas o mazas, cuando están presentes, por la eosina. Cuando los gránulos del pus o de los esputos son aplastados entre portaobjetos y

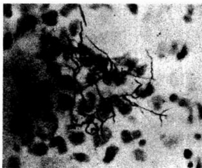


FIG. 169. RAMIFICACIÓN DE ACTINOMYCES EN EL PUS. (Fotografía de Stella Zimmerman. Escuela de Medicina de la Universidad de Siracusa.)

teñidos por el método de Gram, se observan filamentos ramificados, formas difteroides cortas y elementos cocoides grampositivos (fig. 169).

Características de cultivo. *Actinomyces bovis* es un organismo microaerófilo, parcialmente anaerobio. Se puede cultivar directamente a partir de materiales no contaminados en caldo-tioglicolato, en medio de carne picada para anaerobiosis o en cultivos mezclados, en profundidad, de agar-glucosa-infusión de carne a 37° C. En el último medio, las colonias, de tamaño de cabeza de alfiler a lóbulo mayor, que aparecen en cuatro a cinco días, se encuentran a profundidades variables por debajo de la superficie del agar, pero con frecuencia forman una banda a 1,5 cm de la superficie del medio (fig. 170). A partir de fuentes contaminadas, lo mejor para obtener cultivos es sembrar en estrías, en placas de agar-infusión de corazón y cerebro (Bacto) incubadas a 37° C. en condiciones anaerobias, añadiendo el 5 por ciento de anhídrido carbónico (Rosebury y col., 1944). Las colonias llegan a ser visibles en cuatro a seis días y son elevadas, blancas, en ocasiones grisáceas o amarillentas, rugosas, de 1 a 3 mm de diámetro, con bordes y superficies irregulares (fig. 171). Tales colonias son adherentes al medio, difíciles de separar y emulsionar. Cuando se tiñen por el método de Gram se ven masas entrelazadas de filamentos delicados (fig. 172). En pasos repetidos, las colonias rugosas se hacen más lisas, blandas, y se emulsionan con mayor facilidad (fig. 173). Las preparaciones de las colonias lisas teñidas por el Gram revelan agrupaciones de formas en Y y V, grampositivas (fig. 174). Los cultivos se pueden conservar por pasos alternos a medios diferentes con intervalos de dos semanas, incubándolos en condiciones anaerobias con 5 por ciento de anhídrido carbónico.

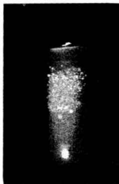


Fig. 170. Actinomyces bovis.
Cultivo mezclado por agitación, en tubo de agar-glucosa-infusión de carne, pH 7,6.

A. bovis se cultiva mejor en medio alcalino (pH óptimo 7,4-7,6) y a 37° C. No es proteolítico y hace fermentar diversos carbohidratos con producción de ácido solamente (Holm, 1930; Negroni y Bonfiglioli, 1937; Erickson, 1940). Negroni y Bonfiglioli (1937) señalaron la producción de indol y la reducción de los nitratos. Con algunas cepas hay formación de SH_2 y hemólisis de los glóbulos rojos humanos lavados.

Resistencia. *Actinomyces bovis* resiste a la desecación a la temperatura ambiente durante 18-22 días (Wright, 1905), o *in vacuo* en la nevera, durante tres o cuatro meses (Negroni y Bonfiglioli, 1937). Mueren los microorganismos cuando se les somete durante una hora a la temperatura de 60° C. en medio húmedo (Colebrook, 1920).

Metabolitos. No se han demostrado *ni endotoxinas ni exotoxinas* para *A. bovis.* La dificultad de obtener gran desarrollo en los cultivos explica probablemente nuestra falta de conocimiento acerca de productos metabólicos como carbohidratos y proteínas que pueden ser producidos por *A. bovis.*

Estructura antigénica. Se han reconocido variaciones en cepas de *A. bovis* (Colebrook, 1920; Holm, 1930; Erickson, 1940; Rosebury y col., 1944). Tales variaciones radican en diferencias en la tolerancia para el oxígeno, reacciones de fermentación, morfología y aglutinación. Sin embargo, no se han separado grupos o especies distintas. Por el momento, *A. bovis,* aunque de naturaleza heterogénea, debe ser considerado como una especie única.

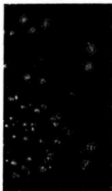




FIG. 171. FIG. 172.

ACTINOMYCES BOVIS.

FIG. 171. Colonias en placas de agar-cerebro-corazón, sembradas en estría; cepa rugosa. Fig. 172. Tinción de Gram de frotis de colonias rugosas; hifas ramificadas entrelazadas. (Fotografías del Dr. Theodor Rosebury, Colegio de Médicos y Cirujanos de la Univ. de California.)





FIG. 173. FIG. 174.

ACTINOMYCES BOVIS.

FIG. 173. Colonias en placas de agar-cerebro-corazón, sembradas en estría: cepa lisa. FIG. 174. Tinción de Gram de un frotis de colonia lisa: formas difteroides. (Fotografías del Dr. Theodor Rosebury, Colegio de Médicos y Cirujanos de la Universidad de Columbia.)

En enfermos con infecciones extensas se han demostrado aglutininas, pero no en pacientes con lesiones cérvicofaciales mínimas (Colebrook, 1920). Los conejos inmunizados también pueden producir aglutininas (Holm, 1930; Colebrook, 1920), pero los intentos para sensibilizar animales con *A. bovis* no han tenido éxito (Mathieson y col., 1935; Emmons, 1938; Rosebury y col., 1944).

Se han publicado cutirreacciones y reacciones de fijación del complemento en el hombre (Neuber, 1940). Sin embargo, Mathieson y colaboradores (1935) demostraron que los individuos normales daban cutirreacciones positivas con estos materiales.

Infección experimental en animales de laboratorio. Aunque los cobayos, conejos, etc., pueden ser infectados con *A. bovis*, los experimentos son difíciles de repetir y no es frecuente lograr una actinomicosis progresiva. Se ha logrado algún éxito empleando inoculaciones repetidas, introducción de materiales extraños (fosfato cálcico, cálculos salivales, etc.) y esforzándose en sensibilizar a los animales antes de la inoculación.

Tipos clínicos de infección en el hombre. La actinomicosis suele diferenciarse en infecciones de tipo cérvicofacial, torácico y abdominal.

La *actinomicosis cérvicofacial* es una infección de la mandíbula y tejidos de la cara y del cuello, caracterizada por hinchazón y endurecimiento, con formación de abscesos múltiples que acaban por abrirse y formar fístulas supurantes. El pus sanguinolento en las fístulas suele contener gránulos macroscópicos de *A. bovis*. Tales infecciones siguen a extracciones dentarias u otras intervenciones operatorias en la boca; la enfermedad progresa por extensión lenta y directa de la infección a través de los tejidos.

La *actinomicosis torácica* es infección de los pulmones y del tórax; hasta que se extiende a través de la pared torácica para dar lugar a fístulas múltiples, el diagnóstico suele quedar en suspenso. Por lo general la infección se confina a la región hiliar y la base de los pulmones. La extensión directa a través del parénquima hasta la superficie de los pulmones y la pleura puede resultar en un proceso inflamatorio con engrosamiento pleural, empiema y osteomielitis de las costillas. La diseminación hematógena de una infección pulmonar primaria puede dar lugar a la formación de focos en órganos como el hígado, riñones y cerebro.

La *actinomicosis abdominal* se origina en la región del ciego y puede simular la apendicitis aguda o subaguda. Debe sospecharse infección por *A. bovis* cuando una herida de apendicectomía no cura y aparecen masas dolorosas irregulares en el abdomen. En períodos más tardíos de la enfermedad, la destrucción de cuerpos vertebrales o la formación de un absceso en el psoas deben hacer pensar en infección por *A. bovis*. La infección se extiende a la piel del abdomen y se forman fístulas de las cuales se pueden obtener *gránulos*. Pueden ocurrir infecciones generalizadas, particularmente por extensión a través del diafragma hacia la cavidad pleural.

Transmisión. La actinomicosis causada por *A. bovis* es una enfermedad endógena del hombre y de los animales. El hongo puede hallarse en caries dentarias y en criptas amigdalares, en ausencia de infección (Lord, 1910; Naeslund, 1925; Lord y Trevett, 1936; Emmons, 1938; Sullivan y Goldsworthy, 1940; Slack, 1942; Rosebury y col., 1944). Las referencias de cuerpos extraños, tales como partículas de paja, en las infecciones cérvicofaciales, parecerían indicar que el hongo vive en la naturaleza y puede ser introducido en el cuerpo humano como contaminante. Sin embargo, *A. bovis* nunca ha sido aislado de substratos naturales; generalmente se admite que cuando se encuentran cuerpos extraños en tales lesiones, probablemente sólo facilitaron que el hongo alcanzase profundidad de los tejidos desde su habita-

ción natural en la boca. No hay referencias de transmisión de hombre a hombre o de animal a hombre. De hecho resulta difícil infectar a los animales de laboratorio con "gránulos" directamente obtenidos de las lesiones o con cultivos puros. La patogenia de la actinomicosis no es todavía bien conocida.

Tratamiento. La actinomicosis responde a las sulfonamidas, a la penicilina y al tratamiento quirúrgico.

NOCARDIOSIS

La nocardiosis, causada por diversas especies del género *Nocardia*, es una infección que produce síntomas variables, tales como peritonitis difusa, neumonitis, seu-

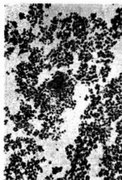


FIG. 175.

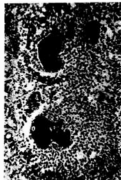


FIG. 176.

Fig. 175. NOCARDIA ASTEROIDES.

Gránulo pequeño en el tejido subcutáneo (× 147).

FIG. 176. NOCARDIA PELLETIERI.

Gránulos rojos en el tejido subcutáneo (× 147).

dotuberculosis, abscesos cerebrales e incluso lesiones seudotumorales subcutáneas difusas (micetomas) con formación de abscesos múltiples.

Nocard (1888) describió el primero una infección en el ganado bovino causada por un actinomiceto de tipo aerobio llamado por Trevisan (1889) *Nocardia farcinica*. Eppinger (1890) describió *Cladothrix asteroides* que había aislado de un caso humano de seudotuberculosis con meningitis y abscesos cerebrales, y Vincent (1894) se refirió a *Streptothrix madurae* obtenido de un caso de micetoma del pie. Estos dos hongos fueron colocados entre los *Nocardia* como *N. asteroides* y *N. madurae*, por Blanchard (1896). Desde estas publicaciones iniciales se han aislado de mi-

cetomas otros actinomicetos aerobios, como *N. Pelletieri*, *N. paraguayensis* y *N. brasiliensis;* estos hongos han sido descritos de tiempo en tiempo como *Streptothrix*, *Cladothrix*, *Discomyces*, *Oöspora*, *Proactinomyces* y *Actinomyces*. Siguiendo la clasificación de Waksman y Henrici (1943) todos estos hongos han sido reunidos en el género *Nocardia*.

Morfología. En los tejidos o en los exudados puede haber gránulos pequeños, amarillos, rojos o negros (figs. 175 y 176). Tales gránulos se componen de un micelio ramificado delicado, que puede tener mazas en las hifas de la periferia de los gránulos. En materiales como esputos, líquido cefalorraquídeo o exudados, puede no haber gránulos organizados y solamente elementos ramificados o bacilares grampositivos (figura 177). Las formas ácidorresistentes pueden ser confundidas con bacilos de la tuberculosis.

Nocardia consta de hifas ramificadas delicadas, de 1 μ o menos de diámetro, si se examina en preparaciones no alteradas, como los cultivos de células. En los cultivos, algunas especies se conservan filamentosas, mientras otras desarrollan hifas que se fragmentan rápidamente en formas bacilares y cocoides. Todas las especies son grampositivas, pero algunas, *N. asteroides* y *N. brasiliensis*, son también ácidorresistentes.



FIG. 177. NOCARDIA ASTEROIDES.

Tinción de Gram de un frotis de esputo (× 1 524).

Características de cultivo. Todas las especies de *Nocardia* son aerobias y se cultivan con facilidad en los medios comunes de laboratorio, tanto a la temperatura de la habitación como en la estufa. Producen colonias de crecimiento lento, diversamente pigmentadas (color crema, anaranjadas, rosa a coral o rojo ladrillo), lisas, arrugadas o granulares, algunas de las cuales semejan a las colonias de las bacterias ácidorresistentes (fig. 178). La pigmentación de una cepa única puede variar de un paso a otro sobre agar-glucosa de Sabouraud, pero permanece bastante constante en agar de Czapek. Algunas cepas producen un micelio aéreo blanco yesoso, que puede perderse en los subcultivos quedando las colonias lisas y sin pelusa. Algunas colonias son membranosas y difíciles de separar de la superficie del agar; otras son blandas y granulares y se separan fácilmente. Algunas especies tienen olor de tierra, característico de muchas especies de *Streptomyces*. En los medios líquidos, las especies de *Nocardia* suelen producir películas en la superficie, permaneciendo el medio transparente.

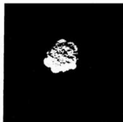


FIG. 178. NOCARDIA ASTEROIDES.

Cultivo en agar-glucosa de Sabouraud a la temperatura de la habitación, de 12 días.

Biológicamente, las diversas especies no son constantes en sus actividades o hay diferencias entre las cepas de una misma especie. El concepto de especie, por lo tan-

to, debería ser suficientemente flexible para admitir una gran variabilidad sin asignar nuevos nombres específicos por ligeras diferencias. Lacaz (1945) encontró, por ejemplo, que de 18 cepas de *N. brasiliensis*, nueve coagulaban la leche, nueve liquidaban la gelatina y solamente tres reducían los nitratos a nitritos. La actividad de estas 18 cepas en la leche tornasolada variaba grandemente. Sin embargo, González-Ochoa (1945) encontró que los cultivos de *N. brasiliensis* y *N. mexicana* eran morfológica y biológicamente idénticos, lo que le permitió reducir *N. mexicana* a sinónimo de la forma sudamericana previamente descrita. No obstante la gran variabilidad en las actividades biológicas de estos hongos, se admite que no forman indol ni fermentan los carbohidratos. En la tabla siguiente se intenta diferenciar algunas especies de *Nocardia* aisladas de infecciones humanas. Para una exposición detallada de todas las especies que se han registrado, debe consultarse la publicación de Lacaz (1945).

COMPARACIÓN DE CINCO ESPECIES DE NOCARDIA

Especies	Gránulos	Pigmento en agar de Czapek	Fragmentación del micelio	Acidorresistencia	Licuefacción de la gelatina	Coagulación de la leche
N. asteroides (Eppinger) Blanchard, 1896	Blanco amarillentos	Amarillo a ocre anaranjado	+	+	—	—
N. brasiliensis (Lindenberg) Cast. & Chalmers, 1913	Blanco amarillentos	Amarillo a ocre anaranjado	+	+	+	+
N. madurae (Vincent) Blanchard, 1896	Blanco amarillentos	Crema a rosado	—	—	+	+
N. Pelletieri (Laveran) Pinoy, 1912	Rojos	Rojo coral	—	—	+	+
N. paraguayensis (Almeida) Conant, 1947	Negros	Crema obscuro	—	—	+	+

Resistencia. Se han aislado del suelo especies de *Nocardia*, lo cual parecería indicar que estos hongos ofrecen gran resistencia a la desecación y a los cambios de temperatura. Sin embargo, en el laboratorio mueren fácilmente a 60° C. durante una hora. Se desconoce la acción *in vitro* e *in vivo* de las sulfonamidas sobre este grupo de hongos. Salle y Jann (1945) demostraron que la subtilina (1:1 000) tiene cierta eficacia contra *N. asteroides*, *N. mexicana* y *N. Pelletieri*. Drake (1946) comprobó que *N. mexicana* era inhibida parcialmente por 10 000 unidades de penicilina por centímetro cúbico de agar, pero resistente a 1 000 unidades. Las cepas de *N. asteroides* y *N. gypsoides* difieren en su resistencia a la penicilina. Schatz y Waksman (1944) comprobaron que *N. asteroides* y *N. gypsoides* eran resistentes a la estreptomicina.

Metabolitos. No se han demostrado exotoxinas ni endotoxinas en las especies de *Nocardia*. Drake y Henrici (1943) obtuvieron un polisacárido, una proteína y una fracción lipoide de los cultivos de *N. asteroides*, pero no pudieron obtener una fracción proteínica del medio en el cual se había desarrollado el hongo. Drake (1946) comprobó que los cultivos de *Streptomyces* y *Nocardia* producían penicilinasa.

Estructura antigénica. De los actinomicetos aerobios, solamente *N. asteroides* ha sido estudiado antigénicamente. Como este hongo es ácidorresistente y por cultivo y morfológicamente similar a *Mycobacterium tuberculosis*, se han iniciado diversos estudios para determinar si *N. asteroides* y *M. tuberculosis* eran también similares desde el punto de vista antigénico. Los primeros estudios demostraron que podían encontrarse antígenos comunes para ambos microorganismos por reacciones de precipitación, aglutinación y fijación del complemento (Drake y Henrici, 1943). La cuestión de las reacciones alérgicas cruzadas, sin embargo, fué decidida por Drake y Henrici (1943), quienes demostraron que los animales infectados con *N. asteroides* reaccionaban en las pruebas cutáneas a un polisacárido, a una proteína y a un extracto crudo de organismos desgrasados y pulverizados, pero no a la tuberculina.

Por otra parte, los animales tuberculosos con un alto grado de alergia, no reaccionaban a los alergenos de *N. asteroides*.

Poder patógeno. Sólo *N. asteroides* es patógeno para los animales de laboratorio; diversas cepas han mantenido su virulencia durante algunos años. Muchas cepas difieren, sin embargo, en su capacidad para iniciar una infección. Drake y Henrici (1943) revivieron la cuestión del poder patógeno y encontraron que la inyección intraperitoneal a cobayos de grandes dosis de los microorganismos y dosis intravenosas algo menores a los conejos ocasionaban la muerte. Sin embargo, no lograron producir una enfermedad progresiva.

Tipos clínicos de infección en el hombre. La mayor parte de las infecciones causadas por actinomicetos aerobios *(Nocardia)* constituyen nódulos subcutáneos supurativos o micetomas. Tales lesiones suelen aparecer en las extremidades como zonas abultadas, deformadas e induradas que se acompañan de dolor moderado. En toda la extensión de la zona infectada se abren numerosos abscesos para formar muchas fístulas que dan salida a los gránulos actinomicóticos típicos. Los huesos del pie pueden presentar decalcificaciones y pequeñas zonas de erosión. La infección es unilateral, evoluciona durante meses o años y puede diseminarse por los linfáticos y afectar la pierna, pero no produce metástasis.

Se han observado micetomas de la mano, del brazo y de la piel del tórax. El diagnóstico se establece demostrando en el microscopio los gránulos actinomicóticos y por cultivo.

La nocardiosis generalizada no es rara. Eppinger (1890) fué el primero en describir *N. asteroides* en un caso mortal de seudotuberculosis que en la autopsia presentó abscesos cerebrales. La infección suele ser de origen pulmonar y remeda la tuberculosis. La diseminación hematógena al resto del organismo puede dar lugar a la formación de abscesos en tejido subcutáneo, vísceras y cerebro. *N. asteroides* ha sido aislado del esputo, abscesos subcutáneos y líquido cefalorraquídeo. Kirby y McNaught (1946) han publicado una revisión de nocardiosis generalizada.

Transmisión. Se han aislado del suelo actinomicetos aerobios patógenos para el hombre y los animales (Gordon y Hagen, 1936). La infección local por inhalación origina infecciones generales, y la introducción por traumatismo de estos hongos en el tejido subcutáneo produce micetoma. Ninguno de estos hongos inicia infecciones de hombre a hombre.

Productos biológicos. Drake y Henrici (1943) han demostrado que un polisacárido, una proteína y suspensiones de los organismos pulverizados, hechas de cultivos de *N. asteroides*, producen reacciones cutáneas específicas en los animales infectados. Tales materiales se pueden utilizar para diagnosticar las infecciones humanas.

Tratamiento. El micetoma del pie ha seguido siendo un problema terapéutico difícil, a pesar de las sulfonamidas y antibióticos. Dixon (1941) y Peters (1945)



FIG. 179. ERITRASMA.

Legrado de la piel con formas bacilares (× 1 630). (Según Conant y colaboradores, *Manual of Clinical Mycology*, W. B. Saunders Co., Filadelfia. 1944.)

publicaron una curación después de tratamiento prolongado con sulfadiacina, y Calero (1947) obtuvo una mejoría evidente con la misma droga. Sin embargo, en la mayor parte de los casos ha sido necesaria la amputación.

En dos casos de nocardiosis generalizada, Benbow, Smith y Grimson (1944) comprobaron la eficacia del drenaje quirúrgico, los yoduros, las sulfonamidas y el tratamiento tónico. Kirby y McNaught (1946) observaron mejoría con sulfadiacina. Muchos casos, sin embargo, sólo son diagnosticados después que la infección se ha extendido ampliamente, cuando toda terapéutica resulta inútil.

ERITRASMA

El eritrasma es una infección superficial de la piel en las regiones axilares, a veces en la púbica y en la génitocrural. La infección está causada por *Nocardia minutissima*, que aparece en la piel como hifas ramificadas finas o como formas bacilares y cocoides (fig. 179). No se han obtenido cultivos del hongo. El diagnóstico se basa en el aspecto clínico, en la localización de las lesiones y en el examen microscópico de preparaciones hechas con el material obtenido raspando la piel.

La enfermedad se caracteriza por zonas máculopapulosas bien circunscritas, de color rojizo amarillento a pardo rojizo, con bordes eritematosos serpiginosos, no elevados ni vesiculados, con escamas furfuráceas sobrepuestas.

TRICOMICOSIS

La tricomicosis es una infección de los pelos axilares o púbicos causada por *Nocardia tenuis* que forma nódulos blandos a lo largo de la caña del pelo (fig. 180). Tales nódulos están compuestos de hifas ramificadas, cortas, delgadas, entremezcladas con cocos cromógenos, que, a veces, dan a los nódulos aspecto amarillo, rojo o negro. La piel circundante no está afectada. No se ha intentado cultivar el hongo; el diagnóstico se basa en el aspecto y la localización de los pelos afectados y en el estudio microscópico de los nódulos.



FIG. 180. TRICOMICOSIS.

Nódulo que se extiende a lo largo de la caña del pelo (× 147).

BIBLIOGRAFIA

Actinomicosis

ABRAHAM, E. P., GARDNER, A. D., CHAIN, E., HEATLEY, N. G., FLETCHER, C. M., JENNINGS, M. A., and FLOREY, H. W. *Lancet*, 1941, 2:177.
ABRAHAMS, I., and MILLER, J. K. *J. Bacteriol.*, 1946, 51:145.
BOSTROEM, E. *Beitr. path. Anat. u. allg. Path.*, 1891, 9:1.
BREED, R. S., MURRAY, E. G. D., HITCHENS, A. P. Bergey's *Manual of Determinative Bacteriology*, Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1948.
COLEBROOK, L. *Brit. J. Exper. Path.*, 1920, 1:197.
CUTTING, W. C., and GEBHARDT, L. P. *Science*, 1941, 94:568.
EMMONS, C. W. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1938, 53:1967.
ERICKSON, D. Med. Res. Council (Brit.), Special Rept., Series # 240, 1940.
HARZ, C. O. (in Bollinger) *Zentralbl. med. Wchnschr.*, 1877, 15:481.
HOLM, P. *Acta. Path. Micro. Scand.* (Suppl. 3), 1930, 151.
ISRAEL, J. *Arch. f. path. Anat. Phys.*, 1878, 74:15.
KEENEY, E. L., AJELLO, L., and LANKFORD, E. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1944, 75:393.
KÜTZING, F. T. *Phycologia generalis oder Anatomie, Physiologie und Systemkunde der Tange*, F. A. Brockhaus, Leipzig, 1843.
LORD, F. T. *J.A.M.A.*, 1910, 55:1261.
——— *Boston Med. Surg. Jour.*, 1910, 163:82.
——— *Med. Clin. N. Am.*, 1933, 16:829.
——— and TREVETT, L. D. *J. Infect. Dis.*, 1936, 58:115.
MATHIESON, D. R., HARRISON, R., HAMMOND, C., and HENRICI, A. T. *Am. J. Hyg.*, 1935, 21:405.
NAESLUND, C. *Acta. Path. Micro. Scand.*, 1925, 2:110.
NEGRONI, P., and BONFIGLIOLI, H. *J. Trop. Med. Hyg.*, 1937, 40:226.
NEUBER, E. *Klin. Wchnschr.*, 1940, 19:736.
PONFICK, E. *Die Aktonomykose des Menschen*, Berlin, 1882.
ROSEBURY, T., EPPS, L. J., and CLARK, A. R. *J. Infect. Dis.*, 1944, 74:131.
SLACK, J. *J. Bacteriol.*, 1942, 43:193.
SULLIVAN, H. R., and GOLDSWORTHY, N. E. *J. Path. & Bacteriol.*, 1940, 51:253.
WAKSMAN, S. A., and HENRICI, A. T. *J. Bacteriol.*, 1943, 46:337.
WOLFF, M., and ISRAEL, J. *Arch. f. path., Anat. u. Phys.* (Virchow), 1891, 126:11.
WRIGHT, J. H. *J. Med. Res.*, 1905, 13:349.

Nocardiosis

BENBOW, E. P., JR., SMITH, D. T., and GRIMSON, K. S. *Am. Rev. Tuberc.*, 1944. 49:395.
BLANCHARD, R. *Traité de path. générale* (Charles Bouchard), 1896, 2:811.
CALERO, M. C. *Arch. Derm. & Syph.*, 1947, 55:761.
DIXON, J. M. *Virginia Med. Monthly*, 1941, 68:281.
DRAKE, C. H., and HENRICI, A. T. *Am. Rev. Tuberc.*, 1943, 48:184.
——— *J. Bacteriol.*, 1946, 51:199.
EPPINGER, H. *Beit. path. Anat.*, 1890, 9:287.
GONZÁLEZ-OCHOA, A. *Rivista Inst. Salub. y Enferm. Trop.*, 1945, 6:155.
GORDON, R. E., and HAGAN, W. A. *J. Infect. Dis.*, 1936, 59:200.
KIRBY, W. M. M., and MCNAUGHT, J. B. *Arch. Int. Med.*, 1946, 78:578.
LACAZ, C. S. *Contribuição para o estudo dos Actinomicetos produtores de micetomas*, These, São Paulo, Brasil, 1945.
NOCARD, M. E. *Ann. de l'Inst. Pasteur, Paris*, 1888, 2:293.
PETERS, J. T. *Am. J. Trop. Med.*, 1945, 25:363.
SALLE, A. J., and JANN, G. J. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1945, 60:60.
SCHATZ, A., and WAKSMAN, S. A. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1944, 57:244.
TREVISAN. *I. Genere e le Species delle Bacteriaceae*, 36 pp., Milán, 1889.
VINCENT, M. H. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1894, 8:129.
WAKSMAN, S. A., and HENRICI, A. T. *J. Bacteriol.*, 1943, 46:337.

CAPITULO LXVI

ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR HONGOS QUE AFECTAN A LOS ORGANOS INTERNOS

CRIPTOCOCOSIS

Torulosis, Blastomicosis europea, Meningitis torulósica

La criptococosis, causada por *Cryptococcus neoformans*, se refiere como *blastomicosis* en la literatura europea y como *torulosis* en las publicaciones americanas más antiguas. No obstante, la enfermedad ocurre esporádicamente en todo el mundo y una designación geográfica circunscrita, tal como blastomicosis europea, resulta errónea.

Cryptococcus neoformans puede infectar cualquier parte del cuerpo, pero tiene predilección por el cerebro y las meninges donde produce una enfermedad que simula estrechamente la meningitis tuberculosa, el absceso o el tumor cerebral. Busse (1894-95) describió primero, en Europa, una infección producida por *Saccharomyces sp.*, que después se hizo generalizada. Un organismo similar, de tipo levadura, *S. tumefaciens*, fué aislado por Curtis, en 1896, de un tumor mixomatoso de la cadera. De 1895 a 1898 Sanfelice aisló organismos de tipo levadura, patógenos, encapsulados, de los ganglios linfáticos de un buey, de los pulmones de un cerdo y de la superficie y jugo de duraznos. Todas estas cepas fueron patógenas para los ratones y se ha considerado que son del mismo hongo. Después que Sanfelice (1895) publicó el primer nombre, *S. neoformans*, y Vuillemin (1901) colocó a este hongo en el género *Cryptococcus*, el aceptado ha sido *C. neoformans*.

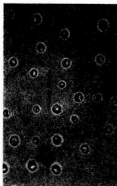


FIG. 181. CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS. Células pequeñas, redondas, de tipo levadura, en agar glucosado de Sabouraud (× 736).

El primer caso de meningitis fué descrito por von Hansemann (1905) en Alemania, pero el interés en Estados Unidos data de la monografía publicada por Stoddard y Cutler en 1916. Benham (1935) demostró que las cepas que causan la meningitis, *Torula histolytica*, son idénticas a las que se han encontrado en Europa, previamente descritas por Busse.

Morfología. Tanto en los tejidos como en los cultivos, *C. neoformans* es una célula con yemas de pared gruesa, oval o esférica, de 5 a 15 μ de diámetro (figura 181). Las células están rodeadas de una cápsula gelatinosa espesa que puede igualar o sobrepasar el diámetro de la célula misma. La identificación se facilita emulsionando una porción de la colonia, pus de los abscesos, esputos o sedimento del

líquido cefalorraquídeo en una gota de tinta china bajo cubreobjetos (fig. 182). La presencia de la cápsula gelatinosa grande, que se ve claramente en tales preparaciones, diferencia este hongo de todos los demás organismos de tipo levadura. La reproducción es por gemación, sin endosporas ni micelios.

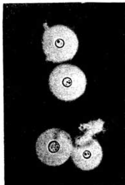


FIG. 182. CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS.

Preparación de líquido cefalorraquídeo en tinta china (× 736).

Características de cultivo. *C. neoformans* se desarrolla rápidamente sobre todos los medios usuales de laboratorio a la temperatura de la habitación y a 37° C. En los cultivos primarios de líquido cefalorraquídeo, sangre o tejidos, las colonias suelen aparecer usualmente en dos a cuatro días, pero en algunos aislamientos el desarrollo se retrasa y no se pueden descubrir colonias definidas hasta después de diez a catorce días. En los cultivos en agar glucosado de Sabouraud, a la temperatura de la habitación, aparecen colonias brillantes, mucoides, blancas, que toman gradualmente color crema a canela brillante (fig. 183). En medio líquido el crecimiento queda confinado al fondo del tubo, excepto en los cultivos viejos en los cuales puede formarse un anillo en la superficie.

Las fermentaciones de los azúcares son extremadamente variables y poco seguras para la identificación. Puede producir ácido con algunos azúcares, especialmente la glucosa, pero sólo después de largos períodos de incubación. Muchos investigadores, sin embargo, han referido fermentaciones negativas.

Puede liquidar la gelatina, pero solamente después de un período de seis a nueve semanas.

Resistencia. *C. neoformans* se puede recuperar de los medios inclinados de agar, después de desecación y conservación a la temperatura ambiente durante varios meses. Cox y Tolhurst (1946) pudieron cultivar el hongo del líquido cefalorraquídeo que había sido dejado secar a la temperatura de la habitación durante diez meses. Sin embargo, muere en cinco minutos cuando se calienta a 60° C. (Crone, de Groat y Wahlin, 1937; Cox y Tolhurst, 1946).

La penicilina (Keeney y col., 1944) y la estreptomicina no inhiben el desarrollo de *C. neoformans* (Robinson y col., 1944). La sulfadiacina sódica muestra cierta actividad, pero ésta se pierde en presencia de sangre total o de suero (Keeney y col., 1944).



FIG. 183. CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS.

Colonia sobre agar glucosado de Sabouraud a la temperatura de la habitación durante 15 días.

Metabolitos. No se han demostrado toxinas. Sin embargo, Mezey y Fowler (1946) atribuyen algunos síntomas a la liberación de substancias tóxicas cuando el hongo se reproduce por gemación.

Se ha obtenido un polisacárido del material capsular (Owen, Anderson y Henrici, 1938; Kligman, 1947). Aschner, Mager y Leibowitz (1945) y Mager y Aschner (1946) han encontrado un almidón extracelular producido en medio líquido y sobre medio sólido. Los últimos investigadores hacen referencia también a un polisacárido en los filtrados de los cultivos (1947). La presencia del almidón extracelular o del polisacárido de los filtrados de los cultivos no ha podido ser confirmada por Kligman (1947).

Estructura antigénica. Benham (1935) ha demostrado por pruebas de absorción de aglutininas y precipitinas que tres cepas patógenas de *C. neoformans* eran idénticas antigénicamente, pero una cuarta cepa (*S. tumefaciens* de Curtis) parecía ser diferente desde el punto de vista antigénico.

Asimismo, una cepa no patógena aislada de las heces de un individuo normal sólo presentó ligera diferencia antigénica con la cepa patógena estudiada. Esta es la única publicación que indica que la criptococosis puede ser causada por cepas heterólogas de *C. neoformans.*

C. neoformans causa una respuesta inmunológica variada y mínima en hombres y animales infectados o en animales inmunizados. Flu y Woensdregt (1918), Shapiro y Neal (1925), Heine, Lauer y Mumme (1940) y Urbach y Zach (1930) no pudieron demostrar aglutininas ni anticuerpos fijadores del complemento en el suero de los pacientes. Rappaport y Kaplan (1926), sin embargo, encontraron aglutininas en un suero humano a título de 1:40 y Ramel (1925) observó una fijación de complemento positiva que más tarde llegó a ser negativa.

Ramel (1925), Grschebin (1927), Urbach y Zach (1930), Bernhardt y colaboradores (1935) y Kessel y Holtzwart (1935) han observado cutirreacciones positivas en los pacientes. Nosotros hemos obtenido reacciones de aglutinación y cutáneas positivas tanto con la vacuna hecha con cultivos del laboratorio como con una autovacuna en un paciente que sufría infestación pulmonar y ósea.

Hay publicaciones contradictorias referentes a las reacciones de inmunidad en animales infectados e inmunizados. Sheppe (1924) no pudo demostrar aglutininas en los conejos. Rappaport y Kaplan (1926) demostraron aglutininas (1:80) y reacciones de fijación de complemento positivas, con reacciones cutáneas y de precipitinas negativas, en conejos y cobayos. Benham (1935) encontró aglutininas (1:160) y precipitinas en suero de conejos inmunes. Kessel y Holtzwart (1935) obtuvieron cutirreacciones negativas en un mono infectado. Owen, Anderson y Henrici (1938) observaron cutirreacciones positivas en conejos infectados cuando se utilizaron células vivas, pero en los conejos y en los cobayos las cutirreacciones fueron negativas para los filtrados y para un polisacárido. Hoff (1942) encontró aglutininas (1:280) en ratones, y Cox y Tolhurst (1946) demostraron aglutininas y precipitinas, pero no anticuerpos fijadores del complemento en conejos. Kligman (1947) no pudo demostrar anticuerpos en conejos, ratones y ratas.

Infección espontánea en los animales. Se han observado infecciones espontáneas en el caballo (Frothingham, 1902; Harrison, 1928), en el buey (Sanfelice, 1895), cerdo (Sanfelice, 1898) y el leopardo asiático (Weidman y Ratcliffe, 1934).

Infecciones experimentales en animales de laboratorio. Los ratones, cobayos y conejos pueden infectarse con cultivos de *C. neoformans,* pero el ratón parece ser el más susceptible. Generalmente, los ratones desarrollan lesiones en el cerebro y en las meninges 10 a 20 días después de una inyección intraperitoneal de 1 c.c. de suspensión turbia del cultivo.

Tipos clínicos de infección en el hombre. *C. neoformans* puede producir lesiones cutáneas que aparecen como pústulas acneiformes, úlceras granulomatosas exca-

vadas, tumores subcutáneos o más bien masas seudotumorales que han sido tomadas equivocadamente por tumores mixomatosos (Wile, 1935; Mook y Moore, 1936). Las infecciones primarias de los pulmones pueden simular tuberculosis o neoplasias (Reeves, Butt y Hammack, 1941; Dormer y col., 1945). Muchos de los casos que empiezan como infecciones superficiales de la piel o leves de los pulmones terminan en meningitis mortal. En la criptococosis generalizada, todos los órganos internos, incluyendo los huesos, pueden estar más o menos afectados, pero la meningitis terminal suele diagnosticarse como meningitis tuberculosa (Levin, 1937). La participación linfática puede simular la enfermedad de Hodgkin; de hecho, algunos cortes de biopsia han sido diagnosticados como tales (Owen, 1940; Torrey, 1947; Cox y Tolhurst, 1946).

Transmisión. La criptococosis es infección esporádica ampliamente distribuída en todo el mundo. Aunque se han registrado infecciones espontáneas en los animales y *C. neoformans* ha sido aislado una vez de un substrato natural, no se conocen casos de transmisión de animal a hombre o del substrato natural al hombre. Tampoco hay referencias de transmisión de hombre a hombre. Benham (1935) pudo obtener de la piel y heces de gentes normales criptococos que eran semejantes a los aislados de las infecciones. Algunas de estas cepas diferían solamente de *C. neoformans* por el reducido poder patógeno; cabe admitir que la enfermedad es de origen endógeno. Puede aparecer en cualquier edad, pero sobre todo entre los 40 y los 60 años; los varones se infectan con frecuencia casi doble que las mujeres; todas las razas parecen ser susceptibles.

Tratamiento. No se conoce terapéutica específica para la criptococosis. Es probable que ocurran infecciones leves de la piel y de los pulmones que pasen inadvertidas y curen espontáneas. Infecciones localizadas ocasionales han sido tratadas con éxito con drenaje, cauterización, rayos X y yoduros (Dienst, 1938; Kessel y Holtzwart, 1935). En la criptococosis generalizada el pronóstico es invariablemente malo. Publicaciones recientes de Reeves, Butt y Hammack (1941) y Marshall y Teed (1942) parecen indicar que la sulfapiridina y la sulfadiacina pueden usarse con éxito. Sin embargo, Jones y Klinck (1945) observaron que la sulfadiacina y la penicilina fueron ineficaces en un caso de meningitis y, experimentalmente, tanto *in vitro* como *in vivo*. Asimismo, Beck y Voyles (1946) demostraron que la sulfadiacina y el yoduro potásico carecían de acción. Como se han conocido casos comprobados con remisiones durante unos dos años, el valor de toda terapéutica sólo puede ser juzgado con exactitud después de largo tiempo. Hemos visto recuperarse un caso de infección pulmonar extensa después de tratamiento prolongado con sulfadiacina, suplementado con terapéutica por autovacunas. La vacuna fué preparada por tratamiento con *N* HCl normal y después inactivación por el calor a 60° C. durante una hora. Un segundo paciente con infección pulmonar y lesiones metastáticas de los huesos fué tratado con éxito empleando sulfadiacina, desensibilización con vacunas y administración prolongada de yoduro potásico por la boca.

MONILIASIS

La moniliasis causada por *Candida albicans* es de origen endógeno, ya que se han aislado cepas patógenas de la boca, vagina e intestino de individuos normales. En la mayor parte de los casos las infecciones son superficiales y leves; con frecuencia se encuentra este organismo como invasor secundario en procesos patológicos iniciados por otros microorganismos patógenos o en neoplasias. Sin embargo, hon-

gos del tipo levadura, particularmente *C. albicans*, han sido identificados como los agentes etiológicos primarios de infecciones micóticas de la piel y de las uñas, en bronquitis, infecciones pulmonares, estomatitis, vaginitis, endocarditis micótica, meningitis e infecciones generalizadas.

Lägenbeck (1839) fué el primero en demostrar un hongo de tipo levadura en lesiones de estomatitis. El hongo fué denominado *Oidium albicans* por Robin (1853) y *Monilia albicans* por Zopf (1890). Berkhout, en 1923, propuso el nombre genérico *Candida* para incluir estos hongos que desarrollaban un seudomicelio y se reproducían por gemación, pero antes de 1930 se habían registrado en la literatura muchos nombres genéricos y más de cien especies. Las publicaciones concernientes

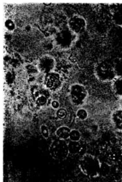


FIG. 184.

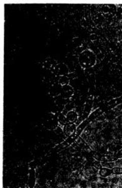


FIG. 185.

FIG. 184. CANDIDA ALBICANS.

Células de tipo levadura (en gemación) en el esputo (× 736).

FIG. 185. CANDIDA ALBICANS.

Clamidosporas características en agar-harina de maíz (× 736).

a clasificación de este grupo de hongos por Benham (1931), Martin y colaboradores (1937), Langeron y Guerra (1938), Martin y Jones (1940), Diddens y Lodder (1942), Mackinnon y Artagaveytia-Allende (1945) y Mackinnon (1946) han simplificado grandemente muchos de los problemas de clasificación e identificación. En general se ha aceptado como único el género *Candida*, y las especies reconocidas para ser incluídas en este género han sido pocas. De ellas, solamente *C. albicans* se considera patógena.

La reciente revisión publicada por Skinner (1947) de los hongos de tipo levadura constituye un resumen excelente de la información disponible sobre estos microorganismos.

Morfología. *C. albicans* es un hongo pequeño, de tipo levadura, oval, que se reproduce por gemación, de 2,5 × 4 × 6 μ. Desarrolla un seudomicelio por alargamiento de células que no llegan a desprenderse. En el esputo, tejidos y exudados pueden verse las células en gemación y fragmentos del seudomicelio (fig. 184). Las clamidosporas típicas, que se producen en agar-harina de maíz (fig. 185), sirven para distinguir *C. albicans* de otras especies de *Candida.*

Características de cultivo. *Candida albicans* se desarrolla rápidamente (24-48 horas) a la temperatura de la habitación y a la de la estufa en agar glucosado de Sabouraud. Las colonias son de tamaño medio, lisas, pastosas y tienen olor a moho característico. Las más viejas (colonias gigantes) pueden ser alveoladas en el centro y forman surcos radiales (fig. 186). No hay desarrollo en superficie en caldo (48 horas); hace fermentar la glucosa y la maltosa con producción de ácido y gas, la sacarosa sólo con ácido y no fermenta la lactosa. Las reacciones químicas enzimáticas productoras de fermentación suelen ser irregulares, a menos que se vigilen cuidadosamente las condiciones (Martin y colaboradores, 1937).



Fig. 186. Candida albicans.
Colonia gigante con surcos radiales, formada en agar glucosado de Sabouraud a la temperatura de la habitación al cabo de 20 días.

Las diferentes especies de *Candida* pueden identificarse con cierta seguridad por: 1) el tipo de colonia producido sobre placas de agar-sangre a 37° C. (10 días); 2) el tipo de crecimiento en caldo glucosado de Sabouraud a 37° C. (48 horas); 3) la producción y morfología de blastosporas, clamidosporas y seudomicelios sobre agar-harina de maíz a la temperatura de la habitación, y 4) la reacción de fermentación después de 10 días a 37° C. en glucosa, maltosa, sacarosa y lactosa (véase la tabla siguiente).

Metabolitos. *No se han demostrado endotoxinas ni exotoxinas* en los organismos de estos hongos de tipo levadura. Se ha demostrado un polisacárido capsular para *C. albicans* (Kesten y col., 1930; Kesten y Mott, 1932; Negroni, 1936; Yen y Kurotchkin, 1935, y otros).

Estructura antigénica. Los estudios serológicos han demostrado que especies reconocidas de *Candida* están estrechamente relacionadas desde el punto de vista antigénico. Benham (1931), Almon y Stovall (1934), Hines (1924), Stone y Garrod (1931), Kesten y colaboradores (1930), Lamb y Lamb (1935) y Martin y colaboradores (1937) demostraron por pruebas de aglutinación, absorción de aglutininas, fijación del complemento, precipitación y absorción de precipitinas, que las reacciones cruzadas entre muchas especies eran manifiestas e intensas. Alguna de estas especies pudo ser diferenciada específicamente por sueros absorbidos, pero *C. albicans* y *C. tropicalis* parecían ser antigénicamente idénticas. Martín (1942), sin embargo, pudo descubrir diferencias antigénicas entre *C. albicans* y *C. tropicalis.*

Negroni (1936) demostró que los aglutinógenos estaban contenidos en la célula de *C. albicans* y que los antígenos precipitantes y fijadores del complemento se hallaban en el polisacárido capsular.

Los animales inoculados con células vivas o muertas de *C. albicans* llegaban a sensibilizarse para las subsiguientes cutirreacciones con extractos o suspensiones del hongo. Muchos hombres normales y la mayor parte de los infectados tienen cuti-

TABLA I: DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE LAS ESPECIES DE CANDIDA *

	PATÓGENOS	NO PATÓGENOS					
	C. albicans	*C. tropicalis*	*C. pseudo tropicalis*	*C. Krusei*	*C. parakrusei*	*C. stellatoidea*	*C. Guilliermondi*
Agar Sabouraud	Crecimiento cremoso	No característico	No característico	Plano, seco	Cremoso	Cremoso	Crecimiento cremoso
Caldo Sabouraud	No hay desarrollo en superficie	Película superficial escasa, con burbujas	No hay desarrollo en superficie	Película superficial extensa	No hay desarrollo en superficie	No hay desarrollo en superficie	No hay desarrollo en superficie
Agar-sangre	Colonias gris obscuras de tamaño medio	Colonias grises, grandes, rodeadas por flecos micelianos	Colonias pequeñas no características	Colonias pequeñas de forma irregular, planas o amontonadas	Colonias pequeñas blanco brillantes	Colonias estrelladas	Colonias grises obscuras de tamaño medio
Harina de maíz	Micelio arbóreo ramificado con clamidosporas	Micelio bien desarrollado, ramificado, con numerosas blastosporas; sin clamidosporas	Micelio poco desarrollado, sin clamidosporas	Micelio en "barras cruzadas" sin clamidosporas	Micelio bien desarrollado, sin clamidosporas	Micelio con grandes racimos esferoidales de blastosporas	Micelio bien desarrollado, sin clamidosporas
Glucosa	AG	AG	AG	AG	AG **	AG	— †
Maltosa	AG	AG	—	—	—	AG	—
Sacarosa	A	AG	AG	—	—	—	—
Lactosa	—	—	AG	—	—	—	—

* De Martin, D. S., Jones, C. P., Yao, K. F. y Lee, L. E., Jr., *J. Bacteriol.*, 1937, 34:99.

** En ocasiones solamente ácido.

† Langeron y Guerra refieren la producción de ácido y gas en glucosa y sacarosa cuando se cultivan a 25° C. y se mantienen 20 días.

rreacciones positivas para tales extractos, usualmente designados *oidiomicina*. Negroni (1936) ha demostrado que la substancia que produce la reacción es un polisacárido capsular.

Como *C. albicans* se puede encontrar en la boca, intestino y vagina de muchas personas normales, hay que dar poca significación diagnóstica al hallazgo de aglutininas o de una cutirreacción positiva. Según Drake (1945), un alto porcentaje de sueros de individuos normales contenían aglutininas para *C. albicans;* para él estas aglutininas aparecerían naturalmente en los sueros humanos, independientemente de la presencia o ausencia del hongo.

Infección experimental en animales de laboratorio. El conejo es particularmente susceptible a la infección con *Candida albicans*, pero bastante resistente a las otras especies de *Candida*. Los conejos inyectados intravenosamente con 1 c.c. de suspensión salina al 1 por ciento de *C. albicans* mueren en cuatro a cinco días con abscesos típicos en los riñones.

Tipos clínicos de infección en el hombre. Es difícil de valuar la presencia de *C. albicans* en los cultivos obtenidos de material clínico. En las infecciones de los pulmones, por ejemplo, el hongo se encuentra con frecuencia como invasor secundario sobrepuesto a una tuberculosis o a un proceso maligno. En el sprue y en la anemia perniciosa el hongo se aisla frecuentemente de las deyecciones (Nye, Zerfas y Cornwell, 1928), pero estos hallazgos indican simplemente la presencia, en mayor número, de un organismo que puede ser aislado del intestino normal (Schnoor, 1939). El hongo puede también ser cultivado a partir de las lesiones de la boca.

Sin embargo, *C. albicans* puede producir infecciones de tipos diversos en las cuales sería el agente causal primario. La moniliasis *(muguet)* de la mucosa bucal se presenta en niños y en personas de edad que sufren enfermedades depauperantes.

La *vaginitis, vulvovaginitis* y la infección de la mucosa vaginal no son infrecuentes en la diabetes y durante el embarazo.

La moniliasis de la piel puede seguir a la maceración de los tejidos como resultado de la constante exposición al agua (amas de casa, cantineros, etc.) o por fricción de partes adyacentes en individuos obesos (axilas, pliegues inframamarios, región inguinal, etc.). La presencia de *C. albicans* en el intestino puede servir para infectar tales regiones.

La *moniliasis broncopulmonar*, aunque difícil de probar, es infección que ocurre con frecuencia suficiente para ser tenida en cuenta al establecer el diagnóstico diferencial de una enfermedad obscura de los pulmones y los bronquios (Ikeda, 1936). La moniliasis pulmonar grave se diagnostica en ocasiones por exclusión y por el restablecimiento después de una terapéutica eficaz dirigida específicamente contra *C. albicans* (Hiatt y Martin, 1946). Tales casos pueden simular la tuberculosis miliar.

La moniliasis generalizada es rara, pero *C. albicans* ha sido la causa primaria de meningitis (Bogen y Kessel, 1937; Smith y Sang, 1933; Miale, 1943; Morris y col., 1945; Halpert y Wilkins, 1946; Zimmerman y col., 1947). Se han referido casos de endocarditis en toxicómanos, de los cuales se aisló *C. parakrusei* en cuatro casos y *C. Guilliermondi* en uno (Friedman y Donaldson, 1939; Joachim y Polayes, 1940; Polayes y Emmons, 1941; Wikler y col., 1942). Wessler y Browne (1945) han publicado un sexto caso causado por *C. albicans*.

Transmisión. Como *C. albicans* se encuentra en la boca y en el intestino de un alto porcentaje de seres humanos, el hongo puede diseminarse desde tales localizaciones para infectar la piel y las uñas. La aspiración del material puede ocasionar infecciones broncopulmonares que alguna vez inician infecciones generalizadas. Cabe suponer que tales tipos de infección sean de origen endógeno. Sin embargo, las in-

fecciones de *C. albicans* pueden ser transmitidas. Se han observado bálanopostitis en los maridos de mujeres con vaginitis por monilias y casos de moniliasis cutáneas alrededor de los pezones de nodrizas causados por niños con muguet bucal. Con frecuencia aparece muguet en niños que se infectan durante el parto.

Skinner (1947), refiriéndose a la ecología de especies de *Candida*, menciona los diversos aislamientos de estos hongos a partir de substratos naturales. Sin embargo, sólo en un caso se registró *C. albicans* como aislado de tales materiales. Negroni y Fischer (1941) aislaron *C. (Aldoi) albicans* de frutas y vegetales descompuestos.

Productos biológicos. Se puede preparar una vacuna para desensibilizar con cultivos de laboratorio de *C. albicans* o de autocultivos autógenos. Las suspensiones salinas (1:1 000 de volumen de células sedimentadas) de un cultivo en agar glucosado de Sabouraud de 48 horas, deben ser inactivadas al baño de María a 60° C. durante una hora. Las inyecciones intradérmicas de 0,1 c.c. de esta vacuna deben ser leídas a los 30 minutos para reacción inmediata y a las 24 horas para reacción retrasada de tipo tuberculínico.

Tratamiento. El violeta de genciana, administrado intravenosamente, en dosis de 5 mg por kg de peso del cuerpo, cada dos días hasta tres o cuatro dosis, a veces cura las infecciones neumónicas agudas por *Candida albicans*. La moniliasis bronquial y pulmonar suelen responder rápidamente a la terapéutica por yoduros si los pacientes no han desarrollado hipersensibilidad para los microorganismos. Los pacientes hipersensibles deben ser desensibilizados con vacuna y después tratados con mucha cautela empleando yoduros. Hiatt y Martin (1946) han publicado un tipo anérgico raro de moniliasis pulmonar, en el cual la curación siguió a la administración de pequeñas dosis de suero de conejo inmune.

Los tipos localizados de moniliasis bucal, vulvovaginal y cutánea suelen responder rápidamente a una variedad de tratamientos; sólo recidivan cuando los factores predisponentes vuelven a presentarse. Ciertos tipos crónicos de glositis y vulvovaginitis persisten años y resisten a todas las formas de terapéutica (Robinson y Tasker, 1947). Alter y sus colaboradores (1947), en la clínica de Duke, han obtenido excelentes resultados con una jalea vaginal de propionato, en ciertos casos de vaginitis crónica que resistieron a todos los tratamientos anteriores.

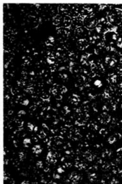


FIG. 187. BLASTOMYCES DERMATITIDIS.
Células de tipo levadura (en gemación) en el pus (× 762).

Prevención. Como la moniliasis suele ser de origen endógeno, lo mejor para prevenirla son medidas de higiene personal.

BLASTOMICOSIS

Blastomicosis norteamericana, enfermedad de Gilchrist

La blastomicosis, causada por *Blastomyces dermatitidis*, puede manifestarse como infección crónica de la piel, como infección supurativa de los pulmones, o como pro-



FIG. 188.



FIG. 189.

FIG. 188. BLASTOMYCES DERMATITIDIS.

Cultivo en agar-sangre a 37° C. durante siete días.

FIG. 189. BLASTOMYCES DERMATITIDIS.

Células de tipo levadura, en gemación de un cultivo en agar-sangre a 37° C. (× 700). (Según Conant y col., *Manual of Clinical Mycology*, W. B. Saunders Co., Filadelfia, 1944.)

caso generalizado, de evolución lenta, que, generalmente, puede afectar a algunos o bien a todos los órganos del cuerpo.

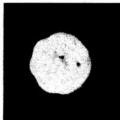


FIG. 190. BLASTOMYCES DERMATITIDIS.

Colonia en agar glucosado de Sabouraud a la temperatura de la habitación durante 14 días.

El microorganismo fué visto primero por Gilchrist (1896) en los cortes de una lesión cutánea que semejaba a la tuberculosis. De un segundo caso, Gilchrist y Stokes (1898) cultivaron el hongo y lo denominaron *Blastomyces dermatitidis*. Se han descrito como agentes etiológicos de la blastomicosis norteamericana *Glenospora gammeli*, *Blastomycoides tulanensis*, *Monosporium tulanense*, *Endomyces capsulatus*, *Endomyces dermatitidis* y *Glenospora brevis*, pero los estudios de los cultivos de estos hongos han demostrado son idénticos a *B. dermatitidis* (Benham, 1934; Conant, 1939).

Morfología. En el esputo, pus y exudados, *B. dermatitidis* aparece en forma de células grandes, redondas, de pared gruesa, de 5 a 15 μ de diámetro, que se reproducen por gemación (figura 187).

Características de cultivo. Sobre agar-sangre o agar glucosado-infusión de carne incubado a 37° C., el hongo produce colonias blandas, céreas, arrugadas, semejan-

tes a las de *Myco. tuberculosis* (fig. 188). El examen microscópico descubre formas redondas en gemación, idénticas en apariencia a las que se encuentran en los tejidos o en el pus de las lesiones (fig. 189).

En agar glucosado de Sabouraud, a la temperatura de la habitación, el hongo produce una colonia filamentosa de color blanco a moreno brillante (fig. 190). El examen microscópico descubre hifas tabicadas, ramificadas, con conidias laterales, esféricas o piriformes, de 5 a 8 μ de diámetro (fig. 191). Si este desarrollo filamentoso se transfiere a medios frescos y se incuba a 37° C., el hongo revertirá a la fase tisular o de levadura.

Blastomyces dermatitidis no hace fermentar los azúcares, pero oxida la glucosa, la manosa, el lactato y el piruvato (Bernheim, 1942).

Resistencia. *B. dermatitidis* muere en 60 minutos a 56° C. y las suspensiones salinas de la fase levadura se pueden calentar de este modo para preparar vacunas. La mayor parte de las sulfonamidas carecen de acción sobre el desarrollo del hongo, pero 125 mg por cien c.c. de sulfadiacina y 175 mg por cien c.c. de sulfanilamida ejercen acción inhibidora (Noojin y Callaway, 1943). La penicilina no afecta a *B. dermatitidis in vitro* (Foster y Woodruff, 1943; Keeney y col., 1944), pero la estreptotricina (10 unidades/c.c.) y la gliotoxina (1:8 000) tienen acción inhibidora (Foster y Woodruff, 1943; Johnson y col., 1943).

Metabolitos. No se han demostrado *ni endotoxinas ni exotoxinas*. Se han extraído lípidos de *B. dermatitidis* (Peck y Hauser, 1938-40) y se ha demostrado que los jabones de sus ácidos grasos inhiben las enzimas de los tejidos (Peck, 1942). También se han aislado carbohidratos y proteínas (Peck, Martin y Hauser, 1940). Se puede preparar un material para reacciones cutáneas, la blastomicina, del filtrado de un medio sintético en el cual se haya cultivado *B. dermatitidis* durante dos o tres meses.



FIG. 191. BLASTOMYCES DERMATITIDIS.

Micelio y conidias de un cultivo en agar Sabouraud a la temperatura de la habitación (× 736).

Estructura antigénica. En los sueros de los pacientes se pueden demostrar anticuerpos fijadores del complemento usando como antígeno suspensiones salinas de la fase de levadura del hongo (Martin, 1941). Las suspensiones salinas de una dilución al 1:1 000 de la fase levadura inactivadas por el calor (60° C. durante una hora), producen una cutirreacción positiva en 24-48 horas si el paciente ha sido sensibilizado para el hongo o sus productos (Martin y Smith, 1936). Se han obtenido cutirreacciones positivas en pacientes tanto por la fracción carbohidrato como por la fracción proteína (Peck y col., 1940).

Enfermedad espontánea en los animales. Martin y Smith (1936) y Foshay y Madden (1942) han observado blastomicosis espontánea en perros.

Infección experimental en animales de laboratorio. Los conejos, cobayos y ratones pueden ser infectados experimentalmente; los últimos son los más susceptibles y, después de una inyección intraperitoneal de 1 c.c. de una suspensión al

1:200 de la fase levadura, suelen desarrollar una infección amplia en unas tres semanas. La inyección intravenosa de la fase levadura en ratones produce una infección rápidamente mortal (Heilman, 1947). Tales infecciones experimentales serán útiles para estudios quimioterápicos *in vivo*.

Tipos clínicos de infección en el hombre. Es conveniente clasificar la blastomicosis en tres formas clínicas: 1) cutánea; 2) pulmonar; 3) generalizada. En la *blastomicosis cutánea*, las lesiones primarias suelen hallarse en las partes expuestas del cuerpo. En los 190 casos analizados por Martin y Smith (1939), la cara, especialmente las mejillas, los párpados y la nariz, estaban afectados en el 45 por ciento; las manos y las muñecas en el 25 por ciento; los brazos en el 20 por ciento, y las extremidades inferiores en el 18 por ciento. La lesión empieza por una pápula o pápulopústula rojiza, pequeña, que aumenta lentamente de tamaño y llega a recubrirse de una costra. Al extenderse la lesión se eleva por encima de la piel circundante y aparecen elevaciones papiliformis verrucosas irregulares, lisas, brillantes, rojiza o de color obscuro. La lesión está limitada de manera precisa de la piel circundante por un borde verrucoso abrupto, elevado, púrpura o rojo obscuro, el cual contiene abscesos intradérmicos diminutos, a veces tan grandes como la cabeza de un alfiler. Ejerciendo presión sobre el borde de la lesión se pueden hacer salir gotitas pequeñas de pus. El diagnóstico se puede hacer por examen microscópico del pus, pero debe ser confirmado por cultivo. La lesión original puede persistir durante meses o años pero, generalmente, y como resultado de autoinoculación, aparecen otras sobre la piel adyacente o en distintas partes del cuerpo. Las lesiones no son dolorosas ni sensibles a la presión y la salud general del paciente no se afecta mientras las lesiones están confinadas a la piel. Si las lesiones locales no curan, puede producirse infección generalizada.

La *blastomicosis pulmonar* suele empezar como lesiones neumónicas aisladas en cualquier parte del pulmón, al parecer por inhalación de los microorganismos. Con la mayor frecuencia las lesiones son diagnosticadas erróneamente de tuberculosis o neoplasia. Muchos pacientes han sido enviados a sanatorios para tuberculosis; sabemos de varios que fueron sometidos a una neumonectomía por diagnóstico erróneo de neoplasia. Ocasionalmente los organismos invaden la pared torácica y su actividad proliferante produce cavidades supurantes múltiples. El esputo puede contener sangre, pero casi siempre presenta numerosos *Blastomyces* del tipo levadura en estado de gemación.

La *blastomicosis generalizada* suele originarse por diseminación del hongo desde una lesión pulmonar. En algunos casos, sin embargo, no se puede descubrir foco ni en los pulmones ni en la piel y el paciente presenta lesión de vértebras, costillas, cerebro u otros órganos internos.

Transmisión. La blastomicosis norteamericana ocurre en los límites de los Estados Unidos y Canadá. La enfermedad se presenta con la mayor frecuencia en los Estados Norcentrales y Sudorientales. La infección se puede adquirir a cualquier edad entre los seis meses y los ochenta años, pero se ve con mayor frecuencia entre los veinte y los cuarenta años. Todas las razas son susceptibles; los varones se infectan nueve veces más frecuentemente que las mujeres. En algunos casos se han observado en individuos normales cutirreacciones positivas para la blastomicina, como ocurre con la histoplasmina y la coccidioidina; probablemente habrían sufrido infecciones subclínicas. Sin embargo, hasta el momento presente no ha habido estudios epidemiológicos de blastomicosis comparables a los hechos sobre coccidioidomicosis o histoplasmosis. Se han referido infecciones espontáneas en perros, pero no se conocen casos de transmisión de animal a hombre. La infección no se dise-

mina de hombre a hombre, si bien han ocurrido diversos casos de inoculación en el curso de necropsias.

Productos biológicos. Como todos los *Blastomyces* son antigénicamente idénticos se pueden usar las vacunas hechas con los cultivos disponibles en el laboratorio para las cutirreacciones y para la desensibilización.

Tratamiento. En terapéutica se emplean los yoduros, la radiación y la desensibilización. El paciente *hipersensible*, comprobado por cutirreacción, debe ser desensibilizado y después tratado con rayos X y yoduro. El paciente que presenta la enfermedad de tipo pulmonar o generalizada debe ser tratado inmediatamente con yoduros si se demuestra que no es hipersensible y si hay anticuerpos comprobados por reacción de fijación del complemento positivo. Cuando el paciente con forma generalizada o pulmonar de la enfermedad tiene negativa la reacción de fijación del complemento, deben administrársele vacunas para provocar la formación de anticuerpos antes de intentar la resolución de las lesiones con yoduros.

BLASTOMICOSIS SUDAMERICANA

Granuloma paracoccidioidal o enfermedad de Lutz-Splendore-Almeida

La blastomicosis sudamericana, causada por *Blastomyces brasiliensis*, es una infección granulomatosa crónica de las mucosas de la boca, piel, ganglios linfáticos y órganos internos. No se ha registrado dicha enfermedad fuera de Sudamérica, donde ha sido descrita en varios países.

El mayor número de casos han sido observados en Brasil.

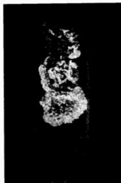


FIG. 192. BLASTOMYCES BRASILIENSIS.

Desarrollo sobre agar glucosado-infusión de carne a 37° C. durante 12 días.

Lutz (1908) describió en Brasil el primer caso de esta enfermedad y lo publicó como un caso de granuloma paracoccidioide porque pensó que el hongo invasor era similar a *Coccidioides immitis*. Carini (1908), al describir un caso similar, lo consideró de blastomicosis; y Splendore (1912), que fué el primero en publicar una infección generalizada, denominó al hongo *Zymonema brasiliensis*. Fonseca (1928-29) pensó que el hongo era similar a *Coccidioides immitis*, pero Almeida (1930), por un estudio comparativo cuidadoso de los dos hongos, logró diferenciarlos y denominó al microorganismo sudamericano *Paracoccidioides brasiliensis*. Moore (1935-38) describió dos especies adicionales, *P. tenuis* y *P. cerebriformis*, que fueron reducidas a sinónimos de *P. brasiliensis* por Conant y Howell (1942). Los últimos autores propusieron que el organismo sudamericano fuera incluído en el género *Blastomyces* como *B. brasiliensis*.

Morfología. *Blastomyces brasiliensis* aparece en los tejidos, exudados y esputos, como células grandes, redondas, de pared gruesa, en *gemación múltiple;* tiene de 10 a 60 μ de diámetro. Toda la superficie de la célula madre puede estar cubierta de pequeñas yemas de 1 a 5 μ de diámetro o presentar solamente algunas yemas

mayores de 10 a 30 μ de diámetro. Las células con una sola yema semejan en ocasiones a la forma tisular del tipo levadura de *B. dermatitidis.*

Características de cultivo. Sobre agar-sangre o agar-glucosa infusión de carne a 37° C. aparecen colonias lisas, céreas, de tipo levadura, que semejan a las de *B. dermatitidis* (fig. 192). Microscópicamente, tales colonias se componen de células en gemación múltiple, de 6 a 30 μ de diámetro, con yemas superficiales de 1 a 5 μ de diámetro (fig. 193).

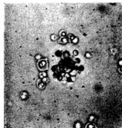


Fig. 193. Blastomyces brasiliensis.

Células de tipo levadura, en gemación múltiple, en agar glucosado-infusión de carne a 37° C.

En agar glucosado de Sabouraud, a la temperatura de la habitación, las colonias se desarrollan lentamente; alcanzan 1 a 2 cm de diámetro, después de dos o tres semanas de incubación. Tales colonias pueden estar cubiertas por un micelio aéreo blanco, corto, que más tarde llega a ser de color pardo brillante (fig. 194), o pueden llegar a ser irregulares, plegadas como un cerebro. Microscópicamente, el micelio consta de hifas con numerosas clamidosporas, abultamientos no característicos y células cortas, anchas, de pared gruesa. Un subcultivo de esta fase filamentosa puede revertir a la fase de levadura si se incuba a 37° C.

Los cultivos son difíciles de obtener de los materiales clínicos porque el crecimiento es muy lento (uno a dos meses) y el agar tiende a secarse antes que se logren. Almeida y Fernandes (1944) pudieron lograr desarrollo en trece días, e incluso en cinco, usando un medio de agar-chocolate e incubando a 37° C.

Resistencia. Las suspensiones salinas de la fase levadura mueren fácilmente si se someten durante una hora a 60° C.

B. brasiliensis es inhibido *in vitro* por la sulfadiacina (20 mg) y la sulfameracina (50 mg), pero no por la sulfanilamida, la sulfapiridina, el sulfatiazol ni la sulfaguanidina (Almeida y col., 1946). La penicilina no ejerce ni *in vitro* ni *in vivo* acción inhibidora sobre *B. brasiliensis* (Almeida y col., 1946).

Metabolitos. *No se han descrito exotoxinas ni endotoxinas.* Los filtrados de cultivos en caldo de Sabouraud contienen la substancia *paracoccidioidina* que describimos más tarde. No se han aislado carbohidratos o proteínas de los cultivos de *B. brasiliensis.*

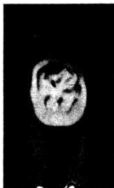


Fig. 194. Blastomyces brasiliensis.

Colonia en agar glucosado de Sabouraud a la temperatura de la habitación durante 25 días.

Estructura antigénica. Se han aislado de pacientes unas cien cepas de *B. brasiliensis.* Muchas de ellas presentan diferencias de cultivo groseras, pero no se han hecho estudios para determinar si constituyen un grupo homogéneo o heterogéneo.

Un filtrado de caldo de Sabouraud, la *paracoccidioidina*, en el cual se han cultivado durante varios meses diecinueve cepas diferentes de *B. brasiliensis*, produce en pacientes sensibles una cutirreacción positiva a las 48 horas, por inoculación intracutánea (Almeida y Lacaz, 1942). Este material puede también usarse como antígeno en reacciones de fijación del complemento en suero y en líquido cefalorraquídeo de pacientes con infecciones generalizadas (Lacaz, 1945). También se pueden preparar antígenos para las cutirreacciones: 1) haciendo suspensiones salinas de la fase levadura desarrollada sobre agar-chocolate y calentándolas a 80° C. durante media hora en tres días sucesivos, o 2) diluyendo al décimo el pus en solución salina y calentando la solución a 70° C. durante media hora tres días sucesivos (Almeida y col.. 1945).

Infección experimental en animales de laboratorio. Los cobayos y ratones pueden ser infectados con cultivos de *B. brasiliensis*. La inyección intratesticular de cobayos y la inyección intraperitoneal de ratones, usando la fase levadura del cultivo o materiales de origen clínico que contengan formas en gemación, producen lesiones similares a las originadas por *B. dermatitidis*. No se han observado infecciones espontáneas en animales.

Tipos clínicos de infección en el hombre. La blastomicosis sudamericana suele dividirse clínicamente en: 1) mucocutánea; 2) linfática; 3) visceral; 4) de tipo mixto. En la infección *mucocutánea*, el hongo penetra por la boca y produce lesiones ulcerosas en amígdalas, lengua, mejillas, encías y paladar. Las lesiones cutáneas alrededor de la boca y de la nariz suelen ser secundarias a las lesiones papilomatosas vegetantes diseminadas de la mucosa bucal. Tales lesiones recuerdan el pian y la leishmaniasis mucocutánea.

El tipo *linfático* afecta más comúnmente a los ganglios del cuello, que pueden llegar a infectarse por extensión de las lesiones bucales, pero también en ausencia de ellas. La diseminación linfática da lugar a la aparición de ganglios duros, dolorosos, que se adhieren a la piel, se reblandecen y acaban por ulcerarse. La linfadenopatía masiva de los ganglios mesentéricos puede confundirse con la enfermedad de Hodgkin o con un tumor, particularmente cuando se localiza en la región ileocecal.

Las *infecciones viscerales* se diseminan ampliamente con participación de bazo, hígado, páncreas, riñones e intestino. Por vía hematógena también son invadidos los pulmones y el cerebro.

Las *infecciones mixtas* incluyen diversas combinaciones de los tipos descritos arriba.

Transmisión. Los cientos de casos registrados en el Brasil indicarían que la enfermedad sería endémica en ciertas regiones y que el hongo existiría en el suelo o en algún vegetal (Almeida, Lacaz y Neto, 1942). Las infecciones primarias de la unión mucocutánea anal, consecutivas al uso de hojas de vegetales para la limpieza, indican la existencia del hongo en tales materiales. El hongo no ha sido aislado todavía del suelo ni de substratos naturales; tampoco se han observado infecciones espontáneas en animales. Un estudio epidemiológico cuidadoso de la enfermedad quizá proporcione resultados similares a los de la coccidioidomicosis.

Tratamiento. La blastomicosis sudamericana responde, más que cualquier otra micosis, a la terapéutica con sulfonamidas. Oliveira Ribeiro (1940-42) describió los primeros casos tratados con éxito mediante sulfanilamida, sulfatiazol y sulfadiacina; y Décourt y colaboradores (1946), en el Brasil, Negroni (1946) y Niño (1946), en Argentina, han referido curaciones usando sulfadiacina, sulfameracina y sulfatiazol. La droga debe darse en grandes dosis (4 g diarios) durante meses, y debe com-

plementarse con vacunoterapia. En las infecciones generalizadas el cambio en el título de los anticuerpos fijadores del complemento indica el progreso del tratamiento.
Conforme el paciente mejora, el título va bajando; si no hay cambio o el título se eleva, el pronóstico es malo.

COCCIDIOIDOMICOSIS

La coccidioidomicosis es una infección exógena transmitida por el polvo y causada por *Coccidioides immitis* (Rixford y Gilchrist, 1896). Se conocen dos formas de la enfermedad: 1) la coccidioidomicosis primaria, que suele ser una infección

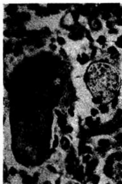


FIG. 195.

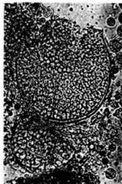


FIG. 196.

FIG. 195. COCCIDIOIDES IMMITIS.

Corte del pulmón. Esférulas maduras y célula gigante con dos células inmaduras (× 736).

FIG. 196. COCCIDIOIDES IMMITIS.

Esférula grande con endosporas, en el pus (× 315). (Según Smith, D. T., *Am. J. Med.*, 2:1947.)

respiratoria aguda, benigna, que cura espontáneamente, y 2) la coccidioidomicosis progresiva, enfermedad crónica, maligna, que afecta a los tejidos cutáneo, subcutáneo, visceral y óseo.

En 1892, Posadas y Wernicke encontraron la forma tisular del microorganismo en un paciente, en Argentina. Los casos segundo y tercero fueron descubiertos en California (Rixford, 1894; Rixford y Gilchrist, 1896). El organismo fué llamado *Coccidioides immitis*, considerando que se trataba de un protozoario. La naturaleza micótica de la infección fué demostrada por Ophüls y Moffitt (1900) y Ophüls (1905), quienes lo aislaron en cultivo puro y reprodujeron la enfermedad en los animales. La forma progresiva de la enfermedad fué llamada originalmente "granu-

loma coccidioide" y casi siempre terminaba en la muerte. El tipo primario benigno fué descrito por Gifford (1936), Dickson (1937 a y b) y Dickson y Gifford (1938).

Morfología. *Coccidioides immitis* no forma yemas en los tejidos, pero se desarrolla en estructuras esféricas, de pared gruesa, de 15 a 80 μ de diámetro, llenas de numerosas endosporas pequeñas, de 2 a 5 μ de diámetro (figs. 195, 196). Cuando las esférulas se rompen, quedan libres las endosporas y se distribuyen por los tejidos, donde aumentan gradualmente de tamaño y desarrollan esférulas maduras, que a su vez se llenan con endosporas. Las células inmaduras pueden no contener endosporas y por su tamaño y aspecto semejarse a las formas sin yemas de *Blastomyces dermatitidis*. En los cultivos, el organismo se desarrolla como un hongo típico y origina imágenes microscópicas enteramente diferentes, que serán descritas en la sección próxima.

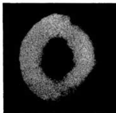


FIG. 197. COCCIDIOIDES IMMITIS.

Colonia en agar glucosado de Sabouraud a la temperatura de la habitación durante siete días.

Características de cultivo. *C. immitis* crece fácilmente en agar glucosado de Sabouraud a la temperatura de la habitación. Después de cuatro a seis días de incubación aparece una colonia plana de tipo membranoso, que en el curso de la semana siguiente se cubre con abundantes micelios aéreos algodonosos, al principio blancos como la nieve pero que gradualmente llegan a ser de color canela o moreno (fig. 197). El examen microscópico de los cultivos jóvenes muestra hifas tabicadas ramificadas que con incubación prolongada se rompen en numerosas artrosporas esféricas, elipsoidales o rectangulares, de pared gruesa, que miden alrededor de 2,5 a 3 × 3 a 4 μ de tamaño (fig. 198). Estas artrosporas pequeñas se desprenden fácilmente por sacudimiento del cultivo; se han producido numerosas infecciones de laboratorio por inhalación de estas esporas desprendidas (Smith, 1948). Los cultivos deben ser manejados con precaución; el asa bacteriológica debe ser humedecida con caldo o solución salina antes de tomar porciones del cultivo para examen microscópico.



FIG. 198. COCCIDIOIDES IMMITIS.

Formación típica de artrosporas en agar glucosado de Sabouraud (× 736).

Aunque *C. immitis* se puede cultivar en cualquier medio de laboratorio, el aislamiento desde los materiales infectados puede ser difícil. El Dr. C. E. Smith recomienda el siguiente medio diferencial: cloruro amónico al 1%, acetato sódico al 1%, fosfato potásico tribásico al 0,8%, sulfato de cobre al 0,04% y agar al 2%.

C. immitis liquida la gelatina, coagula la leche y puede utilizar el carbono de muchos azúcares, alcoholes, aminoácidos, ácidos orgánicos y amidas. La peptona, amidas, aminoácidos, el ion nitrato y el ion amonio pueden servir como fuentes

de nitrógeno (Baker y Smith, 1942). Sin embargo, las actividades bioquímicas de *C. immitis* no constituyen una ayuda práctica para identificar al hongo.

Resistencia. *C. immitis* es muy resistente a la desecación y puede vivir durante meses o años en los cultivos o en el suelo. El hongo ha sido cultivado del suelo cerca de Delano, en el Valle de San Joaquín (Stewart y Meyer, 1932), en el condado de San Benito, junto al Valle de San Joaquín (Smith y Baker, 1941), y en el desierto de Arizona próximo a San Carlos (Emmons, 1942). Las artrosporas producidas en los cultivos son viables después de estar dos meses a 5° C., pero mueren en cuatro minutos a 60° C. (Roessler y col., 1946).

Metabolitos. *C. immitis* no produce ni *endotoxinas* ni *exotoxinas*. La *coccidioidina*, que sirve para cutirreacciones, se prepara por el desarrollo, durante tres a seis meses, de una o de varias cepas, en el medio sintético de Long con adición de uno por ciento de glucosa. Tales cultivos se pasan por filtro de Seitz y se les añade mertiolato (concentración final de 1:10 000). El filtrado se usa como material para cutirreacciones con el fin de descubrir hipersensibilidad. La coccidioidina puede usarse también como antígeno en la prueba de fijación del complemento y en la precipitinorreacción. Sin embargo, para la primera sólo pueden usarse ciertas muestras de coccidioidina, ya que la mayor parte son anticomplementarias.

La coccidioidina es termoestable; resiste los 80° C. durante 30 minutos (Hirsch y Benson, 1927) y la esterilización en el autoclave (Stewart y Kimura, 1940). El material que produce la reacción cutánea es un polisacárido (Hirsch y D'Andrea, 1927; Hassid, Baker y McCready, 1943).

Estructura antigénica. Es probable que haya solamente un tipo antigénico de *Coccidioides immitis,* ya que se ha encontrado que las coccidioidinas preparadas de cepas diferentes dan idénticas reacciones cutáneas cuando se prueban en individuos sensibles (Baker y col., 1943). En la reacción de fijación del complemento, sueros de los pacientes infectados de Texas, Arizona y California pueden todos fijar el complemento con un solo antígeno (Smith, 1948).

Infección espontánea en los animales. Ocurren infecciones espontáneas con *Coccidioides immitis* en bóvidos, ovejas, perros y roedores del desierto (Stiles y Davis, 1942; Emmons, 1942; H. Smith, 1948).

Infección experimental en animales de laboratorio. Los ratones, ratas, conejos, cobayos y perros se infectan fácilmente con cultivos de *Coccidioides immitis*. La inoculación intratesticular de conejos con las artrosporas origina infecciones locales intensas en cuatro a seis días; el pus aspirado de tales lesiones revela la conversión de las astrosporas en esférulas típicas que contienen endosporas. Los organismos en fase de astrospora revierten también al tipo de endospora en cuatro a seis días después de la inoculación intraperitoneal de ratones.

Tipos clínicos de infección en el hombre. En ciertas zonas del suroeste de Estados Unidos, del 50 al 80 por ciento de la población reacciona a las pruebas cutáneas con coccidioidina; ello permite suponer que la mayor parte de los casos de coccidioidomicosis primaria, o son completamente asintomáticos o no pueden ser diferenciados de las infecciones respiratorias leves no específicas (Aronson, Saylor y Parr, 1942). Goldstein y McDonald (1944) estudiaron 75 soldados que adquirieron la forma primaria de coccidioidomicosis durante las maniobras en el desierto en la segunda Guerra Mundial. Los períodos de incubación variaron de 8 a 21 días; los síntomas fueron de bronquitis o "gripe". Alrededor del 19 por ciento de los soldados presentaron lesiones cutáneas de tipo eritema nudoso y el 28 por ciento tuvieron artralgias. Esta forma de la enfermedad ha sido conocida durante años como "fiebre del valle", "reumatismo del desierto" o "fiebre del desierto".

La hipersensibilidad a la coccidioidina aparece entre la segunda y la tercera semana de la infección. La dosis tipo de coccidioidina es de 0,1 c.c. de una dilución al 1:1 000 de un producto valorado, y el material se inyecta intracutáneamente. En muchos pacientes es necesaria una dilución al 1:100 para producir reacciones, pero aquellos que ya han tenido lesiones cutáneas suelen dar reacciones intensas aun con una dilución al 1:10 000. En los casos leves no se encuentran precipitinas ni anticuerpos fijadores del complemento, pero aparecen en los casos más graves, para desaparecer solamente después de la curación.

La coccidioidomicosis progresiva o granuloma coccidioidal suele producirse a partir de los casos más graves de la enfermedad primaria, si bien teóricamente es posible que la infección se reactive a partir de un ganglio linfático no completamente curado, en forma análoga a como se produce reinfección en la tuberculosis pulmonar. Debe sospecharse la forma progresiva de la enfermedad si la temperatura aparece elevada después de la tercera o cuarta semana, si los títulos de precipitinas y de fijación del complemento aumentan y si aparecen nuevas sombras en el parénquima pulmonar. Conforme la enfermedad progresa aparecen lesiones metastáticas en los huesos, tejidos subcutáneos y órganos internos. Muchos pacientes mueren en coma por meningitis terminal (Forbus, 1946).

Transmisión. La coccidioidomicosis es una infección respiratoria transmitida por el polvo, endémica en regiones áridas del sudoeste de Estados Unidos, particularmente California del Sur, Valle de San Joaquín, zona que rodea a Phoenix y Tucson en Arizona y en la parte central del oeste de Texas. Se han registrado algunos casos en Italia, sudeste de Europa y en las Islas Hawaii (Baker, Mrak y Smith, 1943). La región del Chaco, en Argentina, quizá sea la zona endémica principal en Sudamérica (Jorge y col., 1946). No se sabe que la enfermedad se transmita de hombre a hombre o de animal a hombre. Los animales que viven en las zonas endémicas se infectan probablemente, lo mismo que el hombre, por inhalación de polvo contaminado; los roedores infectados pueden servir para indicar la extensión de las áreas endémicas.

Tratamiento. Para los casos de coccidioidomicosis primaria no se necesita otro tratamiento particular que el reposo en cama hasta que la velocidad de sedimentación sea normal, los pulmones estén radiológicamente limpios y la reacción de fijación del complemento sea negativa. La mayor parte de los pacientes con la forma progresiva de la enfermedad (granuloma coccidioide) han muerto, si bien alguno ha curado después de una enfermedad prolongada (Cox y Smith, 1939). Un paciente con la enfermedad generalizada y afección múltiple de los huesos curó después de reposo prolongado y desensibilización con la coccidioidina (Waring, 1948). Se ha comprobado que la penicilina no tiene valor inyectada intramuscular ni intrarraquídeamente (Arnold y Levy, 1946).

Prevención. Las medidas contra el polvo, tales como la pavimentación de carreteras y caminos, el alquitranado de los campos atléticos y la plantación de césped en cuatro de los campos aéreos usados por las Fuerzas Aéreas del Ejército en la segunda Guerra Mundial, según han demostrado Smith y colaboradores (1946), han reducido la proporción de infecciones de individuos susceptibles en 50 a 75 por ciento.

HISTOPLASMOSIS

La histoplasmosis, causada por *Histoplasma capsulatum*, es una infección primaria del sistema retículoendotelial que origina aumento de tamaño del hígado, bazo

y ganglios linfáticos. Como resultado de la infección masiva de la medula ósea suele producirse neutropenia con linfocitosis relativa.

El organismo fué visto por primera vez por Darling (1906-1909) en cortes de hígados y bazos extirpados de los nativos de la zona del Canal de Panamá que habían muerto de una enfermedad semejante a la leishmaniasis visceral. Darling denominó al organismo *Histoplasma capsulatum* creyendo que se trataba de un protozoario estrechamente relacionado con *Leishmania donovani*. Da Rocha-Lima (1912-1913) observó que los organismos producían yemas y sugirió que se trataba de hongos relacionados con los criptococos. La prueba final de la naturaleza micótica de la in-



FIG. 199.



FIG. 200.

FIG. 199. HISTOPLASMA CAPSULATUM.

Célula mononuclear parasitada en frotis de sangre periférica (× 1 540).

FIG. 200. HISTOPLASMA CAPSULATUM.

Crecimiento de tipo levadura sobre agar-sangre a 37° C. durante cinco días.

fección fué suministrada por Hansmann y Schenken (1933-34) y DeMonbreun (1934), quienes fueron los primeros en cultivar *H. capsulatum*.

Morfología. *Histoplasma capsulatum* es un organismo pequeño (2-4 μ), de tipo levadura, oval, que produce yemas y se desarrolla dentro del organismo animal, exclusivamente en el citoplasma de las células endoteliales y mononucleares (figura 199). Los microorganismos tienen aproximadamente el tamaño y la forma de *Leishmania donovani*, pero les falta el material nuclear central. Se pueden demostrar en los cortes de los tejidos por tinción de Gram o, de manera más neta, por el método de Giemsa. Los frotis de la sangre periférica, medula ósea, esputo y exudados deben hacerse sobre cubreobjetos y teñirse por el método de Giemsa.

Características de cultivo. La forma tisular de *H. capsulatum* se puede obtener por desarrollo en medios inclinados de agar-sangre a 37° C., si los tubos se

cierran perfectamente después de sembrados (fig. 200). Las colonias, que son de tipo levadura, lisas y de color blanco o cremoso, semejan estrechamente a las colonias de *Staphylococcus albus.* Microscópicamente el cultivo se compone de pequeñas células de 2 × 4 μ de tamaño, ovales, con gemación simple (fig. 201).

En agar glucosado de Sabouraud, a la temperatura de la habitación, tiene lugar un crecimiento filamentoso, que al principio es algodonoso y blanco pero que gradualmente llega a ser canela o moreno (fig. 202). En los cultivos jóvenes las hifas tabicadas ramificadas soportan pequeñas esporas piriformes o redondas, lisas, de 2,5 a 5 μ, sobre ramas laterales cortas. En los cultivos más viejos hay numerosas esporas redondas o piriformes, de pared gruesa (8 a 20 μ), que se cubren con proyecciones digitiformes. Estas esporas tuberculadas son características y aseguran el diagnóstico de *H. capsulatum* (fig. 203). Los cultivos filamentosos se pueden convertir en la forma de tipo levadura por subcultivo del desarrollo filamentoso en medios inclinados de agar-sangre que se cierran herméticamente después de la siembra e incuban a 37° C. Salvin (1947) ha obtenido grandes cantidades de cultivo de tipo levadura a 37° C. en un medio semisólido que contenía una mezcla de compuestos orgánicos nitrogenados.

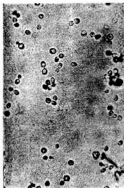


FIG. 201. HISTOPLASMA CAPSULATUM.

Células de tipo levadura de un cultivo en agar-sangre a 37° C. (× 700).

Histoplasma capsulatum no hace fermentar los azúcares con producción de ácido o gas, pero utiliza la glucosa, maltosa, sacarosa, lactosa, manosa, rafinosa, inulina y almidón. Los nitratos son reducidos a nitritos, no forma indol ni altera la leche simple o tornasolada. Liquida lentamente la gelatina (Negroni, 1940; Scheff, 1945).

Resistencia. *H. capsulatum* muere en 15 minutos a 55° C. y por la acción del formol al 1-2 por ciento, en 24 horas. Las sales sódicas de sulfatiazol, sulfadiacina y sulfameracina inhiben el crecimiento en concentración de 100 mg por cien c.c. (Keeney, Ajello y Lankford, 1944). La penicilina no tiene acción *in vitro.*

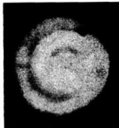


FIG. 202. HISTOPLASMA CAPSULATUM.

Colonia en agar glucosado de Sabouraud a la temperatura de la habitación durante 23 días. (Según Conant y col., *Manual of Clinical Mycology,* W. B. Saunders Co., Filadelfia, 1944.)

Metabolitos. *No se han demostrado endotoxinas ni exotoxinas.* Los filtrados de cultivos en caldo de la fase miceliana de *H. capsulatum* contienen substancias que permiten descubrir la hipersensibilidad a los organismos. Este material, conocido como *histoplasmina,* se prepara por cultivo de la fase filamentosa durante 2 a 4 meses en un medio sintético (Emmons, Olson y Eldridge, 1945). Se ha obtenido un

polisacárido y una proteína de la fase miceliana, por Scheff (1945), y de la histoplasmina, por Cross y Howell (1948).

Estructura antigénica. Van Pernis y colaboradores (1941) demostraron que un paciente y ratones infectados dieron cutirreacciones positivas cuando se les inyectó un filtrado de un cultivo de caldo o un precipitado acetónico del filtrado. Sin embargo, estos antígenos no dieron reacciones de precipitación, ni de fijación del complemento con el suero del paciente. Según Scheff (1945) los sueros de conejos infectados dieron precipitinorreacciones negativas con las fracciones polisacárido y proteína, pero proporcionaron reacciones positivas con los sueros de conejos inmunizados. Sin embargo, los conejos infectados presentaron cutirreacciones positivas al filtrado, al polisacárido y a la proteína; los conejos inmunizados no dieron reacción. Según Cross y Howell (1948) los cobayos inoculados con *H. capsulatum* dieron reacciones cutáneas positivas con un polisacárido obtenido de la histoplasmina. Sin embargo, los cobayos inoculados con *Blastomyces dermatitidis* también reaccionaron al polisacárido.

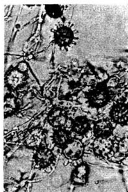


FIG. 203. HISTOPLASMA CAPSULATUM.

Clamidosporas tuberculadas típicas de un cultivo en agar de Sabouraud (× 658). (Según Smith, D. T., *Am. J. Med.*, 2:1947.)

Salvin (1947) obtuvo reacciones de fijación del complemento positivas con los sueros de conejos y hombres infectados con *H. capsulatum* cuando utilizó como antígeno la fase levadura del hongo. En estas pruebas pudo emplearse la histoplasmina como antígeno, pero este material fué menos específico ya que se obtuvieron reacciones de fijación del complemento positivas con sueros humanos anti-*Coccidioides* y con sueros de conejo anti-*Blastomyces*, anti-*Monilia* y anti-*Coccidioides*. El antígeno histoplasmina sólo reaccionó con los sueros heterólogos en títulos bajos (1:8); estos títulos no se compararon con los obtenidos empleando antígenos homólogos. Según Tenenberg y Howell (1948) la histoplasmina podía fijar el complemento con los anticuerpos de los sueros de cobayos inoculados con *H. capsulatum*. La histoplasmina dió reacciones cruzadas con sueros de cobayos anti-*Blastomyces*, pero en diluciones del suero mucho menores. Furcolow y col. (1948) dicen haber obtenido reacciones de fijación del complemento positivas, usando histoplasmina como antígeno, con sueros de hombres infectados y con los de personas con lesiones pulmonares positivas a la histoplasmina pero negativas a la tuberculina.

Se han publicado cutirreacciones positivas a la histoplasmina para grandes grupos de individuos por Palmer (1945, 1946), Christie y Peterson (1945), Furcolow y colaboradores (1946), Prior y Allen (1947) y Sontag y Allen (1947).

Nosotros hemos demostrado aglutininas (1:1 280) en los sueros de conejos inmunizados con el tipo levadura de *H. capsulatum*.

Infección espontánea en animales. Se han encontrado infecciones espontáneas en perros (DeMonbreun, 1939; Birge y Riser, 1945; Seibold, 1946) y en roedores (Emmons y col., 1947). Sin embargo, no se ha demostrado que el hombre se infecte por contacto con los animales.

Infección experimental en animales de laboratorio. Los ratones, cobayos y perros pueden ser infectados con cultivos de *H. capsulatum*.

Tipos clínicos de infección en el hombre. Aunque se han descrito lesiones cutáneas primarias (Hansmann y Schenken, 1934; Curtis y Grekin, 1947) la histoplasmosis es esencialmente una infección general producida por la forma pequeña, tipo levadura, del hongo, que se distribuye ampliamente por el sistema retículoendotelial. La infección puede empezar en la mucosa de la nariz, labios, boca, faringe o laringe (Moore y Jorstad, 1943), pero tales lesiones generalmente son manifestaciones secundarias de la infección generalizada. Estas lesiones pueden simular carcinoma o tuberculosis.

En muchos casos la infección primaria puede tener lugar a través del intestino, con ulceración del tejido linfoide, aumento de tamaño de los ganglios linfáticos mesentéricos, hepatoesplenomegalia y linfadenopatía generalizada que hace pensar en la enfermedad de Hodgkin o en una leishmaniasis visceral.

En pacientes muertos con lesiones extensas de los pulmones, comprobadas en la autopsia, probablemente la infección primaria tuvo lugar por vía pulmonar. Tal infección pudo diseminarse rápidamente y producir el tipo de diseminación extensa acompañada de temperatura irregular, leucopenia, hepatomegalia, esplenomegalia, anemia secundaria y emaciación.

Hasta recientemente se pensó que la infección era una enfermedad progresiva maligna y casi siempre mortal. Los estudios epidemiológicos de Christie y Peterson (1945), Palmer (1945, 1946) y otros autores han señalado, sin embargo, que el tipo más común puede ser el de una histoplasmosis pulmonar benigna limitada. Lo demuestran las cutirreacciones positivas a la histoplasmina en decenas de millares de individuos que residen en el Valle Central del Mississippi. Tales pacientes no presentan síntomas, pero las exploraciones radiológicas de los pulmones hechas durante los primeros meses de la enfermedad muestran numerosos focos de infiltración pequeños, blandos, de 2 a 3 mm de tamaño. Después de 3 ó 4 años estos focos llegan a calcificarse y remedan la calcificación vista en las infecciones pulmonares primarias (Furcolow y col., 1947). En muchos casos los ganglios linfáticos biliares están aumentados de tamaño y calcificados. Tales pacientes dan cutirreacción intensamente positiva a la histoplasmina diluída al 1:1 000. En las zonas endémicas, el estudio de cierto número de individuos que presentaban focos calcificados múltiples en sus pulmones, ha demostrado que el número de tuberculinnegativos e histoplasminapositivos excede en mucho al de personas que dan reacción positiva a la tuberculina y negativa a la histoplasmina. No se sabe por qué la infección es tan benigna cuando el organismo llega al pulmón por inhalación ni por qué es mortal cuando penetra por otras vías.

Transmisión. No se ha descubierto el reservorio de *Histoplasma capsulatum* en la Naturaleza. Emmons y colaboradores (1947) encontraron roedores infectados espontáneamente, pero nos inclinamos a considerarlos como víctimas y no origen de la enfermedad. Los niños pequeños se infectan con frecuencia con *Histoplasma;* el paciente más joven registrado tenía solamente un mes de edad, pero se han comunicado otros diez casos en los primeros doce meses de la vida. Antes de los diez años, ambos sexos se afectan por igual; pero en los grupos de mayor edad los varones contraen la infección clínica siete veces más frecuentemente que las mujeres. Tal distribución sugiere que el reservorio de la infección esté en los campos o en los bosques donde los hombres suelen hallarse más expuestos, pero indicaría también que el microorganismo puede ser llevado al hogar, donde los niños de ambos sexos se expondrían por igual.

La histoplasmosis se ha encontrado en regiones ampliamente diseminadas en todo el mundo, si bien un tercio de los casos se ha encontrado en los Estados de Michigan, Missouri, Tennessee e Illinois (Parsons y Zarafonetis, 1945; Christie y Peterson, 1945).

Tratamiento. La histoplasmosis en su forma generalizada es enfermedad mortal. Han curado algunos casos, independientemente de la terapéutica. Los compuestos de antimonio, las sulfonamidas, la penicilina, el radio y la radioterapia han sido usados con poco éxito, excepto en algunos casos, en particular de lesiones localizadas.

GEOTRICOSIS

La geotricosis, causada por *Geotrichum candidum*, puede presentarse como infección de la piel y mucosas, o como infección de los pulmones que remeda la tuberculosis pulmonar crónica.

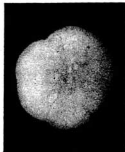


FIG. 204. GEOTRICHUM CANDIDUM.

Colonia en agar glucosado de Sabouraud a la temperatura de la habitación durante diez días.

En la literatura antigua, los géneros *Oidium*, *Mycoderma* y *Oospora* se han usado en forma intercambiable para los hongos del tipo levadura que forman colonias membranosas y se reproducen por segmentación de las hifas en artrosporas rectangulares. *Geotrichum candidum*, aislado de hojas enmohecidas por Link (1809), ha sido aceptado como la especie tipo; los otros nombres genéricos han quedado reducidos a sinónimos (Ciferri y Redaelli, 1929; Langeron y Talice, 1932). Se han aislado diversas especies de *Geotrichum* de esputos, deyecciones y de la piel. Dodge (1935) registró diez especies, alguna de las cuales no pertenece al género *Geotrichum*. *G. immitis* y *G. louisianoideum*, por ejemplo, son idénticos a *Coccidioides immitis*. Otras especies quedan separadas sobre bases dudosas a causa de la falta de diferenciación morfológica o características biológicas.

Se han aislado organismos del género *Geotrichum* del esputo de pacientes con bronquitis crónica y enfermedad pulmonar aguda o crónica (Moore, 1934; Smith, 1934; Almeida y Lacaz, 1940; Kunstadter y col., 1946).

Morfología. En el esputo, *Geotrichum candidum* aparece en forma de elementos rectangulares (artrosporas), de 4 a 6 μ por 8 a 12 μ de tamaño, o como células redondeadas u ovoides, de pared gruesa, de 8 a 15 μ de diámetro. Las células rectangulares son características del género *Geotrichum*, pero las formas redondeadas se pueden confundir con *Blastomyces dermatitidis*. En presencia de ambos tipos de células, sin embargo, debe sospecharse *Geotrichum*.

Características de cultivo. *G. candidum* crece rápidamente en agar glucosado de Sabouraud a la temperatura de la habitación o de la estufa. Las colonias llegan a ser perceptibles en 4 a 5 días y en 7 a 10 se hacen grandes, membranosas, harinosas, planas y de color blanco o crema (fig. 204). A pesar de su aspecto, la consistencia es blanda y el material de tipo levadura se puede recoger con una asa y emul-

sionar fácilmente en agua. Al microscopio, la superficie del cultivo presenta numerosas células rectangulares y redondas (artrosporas) que se han formado por fragmentación de las hifas (fig. 205). En agar, las hifas son gruesas, de 4 a 10 μ de diámetro, y tienden a ramificarse por dicotomía. Las artrosporas no forman yemas, pero producen tubos germinativos característicos desde un ángulo. Los tubos germinativos, producidos tanto por las células rectangulares como por las redondas, se alargan, ramifican y acaban por formar nuevas colonias. En los medios líquidos se forma una membrana superficial; la mayor parte de las cepas aisladas liquidan la gelatina y producen ácido en algunos azúcares; algunas cepas coagulan la leche.

Resistencia. *Geotrichum candidum* muere en una hora a 56° C. No se conoce la acción de las sulfonamidas ni de los antibióticos. El violeta de genciana es inhibidor en altas diluciones (Conant y col., 1944).

Metabolitos. No se conocen *ni exotoxinas ni endotoxinas.*

Nada se sabe acerca de la *estructura antigénica*, ni de la *enfermedad espontánea en animales;* tampoco hay referencias sobre animales de laboratorio.

Tipos clínicos de infección en el hombre. La infección de los bronquios produce síntomas similares a los de una bronquitis bacteriana crónica, con tos persistente. El esputo suele ser blanco, mucoso y contiene copos grisáceos; en ocasiones puede estar estriado de sangre. Se pueden oír estertores medianos y gruesos en la base de los pulmones; los rayos X suelen demostrar engrosamiento peribronquial difuso. Hay poca reacción general y la salud del paciente es buena.

La infección de los pulmones puede simular tuberculosis, con los signos típicos de matices, ruidos respiratorios alterados y estertores finos y medianos. Las lesiones pueden aparecer como focos de infiltración, densos, lisos, eventualmente con cavidades de pared delgada. La geotricosis bucal semeja al muguet causado por *Candida albicans.*



FIG. 205. GEOTRICHUM CANDIDUM.

Formación típica de artrosporas en agar glucosado de Sabouraud (× 658). (Según Smith, D. T., *Am. J. Med.*, 2:1947.)

Transmisión. *Geotrichum candidum* se encuentra en el suelo como saprófito. Ha sido aislado de las evacuaciones de gente normal (Benham y Hopkins, 1933; Schnoor, 1939; Negroni y Fischer, 1940; Almeida, Lacaz y Barros, 1945) y también de la piel (Benham y Hopkins, 1933; Fisher y Arnold, 1936; Croft y Black, 1938).

Tratamiento. El yoduro potásico por la boca y el yoduro sódico intravenoso han resultado eficaces (Smith, 1934; Kunstadter y col., 1946).

BIBLIOGRAFIA

Criptococosis

ASCHNER, M., MAGER, J., and LEIBOWITZ, J. *Nature*, 1945, 156:295.
BECK, E. M., and VOYLES, G. Q. *Arch. Int. Med.*, 1946, 77:516.
BENHAM, R. W. *J. Infect. Dis.*, 1935, 57:255.
BERNHARDT, R., ZALEWSKI, G., and BURAWSKY, J. *Arch. f. Dermat. u. Syph.*, 1935, 173:78.

BUSSE, O. *Centralbl. f. Bakt.*, 1894, 16:175.
——— *Arch. f. Path., Anat. u. Phys. (Virchow)*, 1895, 140:23.
COX, L. B., and TOLHURST, J. C. *Human Torulosis*, Melbourne Univ. Press, Melbourne, Australia, 1946.
CRONE, J. T., DE GROAT, A. F., and WAHLIN, J. G. *Am. J. Path.*, 1937, 13:863.
CURTIS, F. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1896, 10:449.
DIENST, R. B. *Arch. Dermat. & Syph.*, 1938, 37:461.
DORMER, B. A., FRIEDLANDER, J., WILES, F. J., and SIMSON, F. W. *J. Thoracic Surg.*, 1945, 14:322.
FLU, P. C., and WOENSDREGT, M. M. G. *Meded. Bnrgerl. Geneesk. Dienst., Nederl. Indie*, 1918, 6:1.
FROTHINGHAM, L. *J. Med. Res.*, 1902, 8:31.
GRSCHEBIN, S. *Dermat. Wchnschr.*, 1927, 85:1049.
HARRISON, F. C. *Trans. Roy. Soc. Canada Biol. Sci.*, 1928, 22:187.
HEINE, J., LAUER, A., and MUMME, C. *Beit. z. path. Anat. u.z. allg. Path.*, 1940, 104:57.
HOFF, C. L. *J. Lab. & Clin. Med.*, 1942, 27:751.
JONES, S. H., and KLINCK, G. H. *Ann. Int. Med.*, 1945, 22:736.
KEENEY, E. L., AJELLO, L., and LANKFORD, E. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1944, 75:393.
KESSEL, J. F., and HOLTZWART, F. *Am. J. Trop. Med.*, 1935, 15:467.
KLIGMAN, A. M. *J. Immunol.*, 1947, 57:395.
LEVIN, E. A. *Arch. Int. Med.*, 1937, 59:667.
MAGER, J., and ASCHNER, M. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1946, 62:71.
——— *J. Bacteriol.*, 1947, 53:283.
MARSHALL, M., and TEED, R. W. *J.A.M.A.*, 1942, 120:527.
MEZEY, C. M., and FOWLER, R. *J.A.M.A.*, 1946, 132:632.
MOOK, W. H., and MOORE, M. *Arch. Dermat. & Syph.*, 1936, 33:951.
OWEN, C. R., ANDERSON, M. B., and HENRICI, A. T. *Mycopathologia*, 1938, 1:10.
OWEN, M. *Texas State J. Med.*, 1940, 35:767.
RAMEL, E. *Arch. f. Dermat. u. Syph.*, 1925, 148:218.
RAPPAPORT, B. Z., and KAPLAN, B. *Arch. Path. & Lab. Med.*, 1926, 1:720.
REEVES, D. L., BUTT, E. M., and HAMMACK, R. W. *Arch. Int. Med.*, 1941, 68:57.
ROBINSON, H. J., SMITH, D. G., and GRAESSLE, O. E. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1944, 57:226.
SANFELICE, F. *Centralbl. f. Bakt.*, 1895, 18:521.
——— *Ztschr. f. Hyg.*, 1898, 29:463.
SHAPIRO, L. L., and NEAL, J. B. *Arch. Neurol. & Psychiat.*, 1925, 13:174.
SHEPPE, W. M. *Am. J. Med. Sci.*, 1924, 167:91.
STODDARD, J. L., and CUTLER, E. C. *Rockefeller Inst. Med. Res.*, 1916, 25:1.
TORREY, F. A. *Arch. Dermat. & Syph.*, 1947, 55:738.
URBACH, E., and ZACH, F. *Arch. f. Dermat. u. Syph.*, 1930, 162:401.
VON HANSEMANN. *Verhandl. d. deutsch. path. Gesellsch.*, 1905, 9:21.
VUILLEMIN, P. *Rev. Gen. Sci.*, 1901, 12:732.
WEIDMAN, F. D., and RATCLIFFE, H. L. *Arch. Path.*, 1934, 18:362.
WILE, U. J. *Arch. Dermat. & Syph.*, 1935, 31:58.

Moniliasis

ALMON, L., and STOVALL, W. D. *J. Infect. Dis.*, 1934, 55:12.
ALTER, R. L., JONES, C. P., and CARTER, B. *Am. J. Obst. & Gyn.*, 1947, 53:241.
BENHAM, R. W. *J. Infect. Dis.*, 1931, 49:183.
BERKHOUT, C. M. *De Schimmelgeslachten Monilia, Oidium, Oospora en Torula*, Edauw & Johannissen, Scheveningen, 1923.
BOGEN, E., and KESSEL, J. F. *Arch. Path.*, 1937, 23:909.
DIDDENS, H. A., and LODDER, J. *Die anaskosporogenen Hefen*, Zweite Hälfte, N. V. Noord-Hollandsche Uitgevers Maatschappij, Amsterdam, 1942.
DRAKE, C. H. *J. Immunol.*, 1945, 50:185.
FRIEDMAN, N. B., and DONALDSON, L. *Arch. Path.*, 1939, 27:394.
HALPERT, B., and WILKINS, H. *J.A.M.A.*, 1946, 130:932.
HIATT, J. S., and MARTIN, D. S. *J.A.M.A.*, 1946, 130:205.
HINES, L. E. *J. Infect. Dis.*, 1924, 34:529.
IKEDA, K. *Arch. Path.*, 1936, 22:62.
JOACHIM, H., and POLAYES, S. H. *J.A.M.A.*, 1940, 115:205.
KESTEN, H. D., COOK, D. H., MOTT, E., and JOBLING, J. W. *J. Exper. M.*, 1930, 52:813.
——— and MOTT, E. *J. Infect. Dis.*, 1932, 50:459.
LAGENBECK, B. *Neue Notizen aus dem Gobiete der Natur und Heilkunde*, (Froriep), 1839, 252:145.
LAMB, J. H., and LAMB, M. L. *J. Infect. Dis.*, 1935, 56:8.
LANGERON, M., and GUERRA, P. *Ann. parasit. hum. et comp.*, 1938, 16:36, 162, 429, 481.
MACKINNON, J. E., and ARTAGAVEYTIA-ALLENDE, R. C. *J. Bacteriol.*, 1945, 49:317.
——— *Zimologia Medica*, El Siglo Ilustrado, Montevideo, 1946.

MARTIN, D. S., JONES, C. P., YAO, K. F., and LEE, L. E., JR. *Am. J. Trop. Med.*, 1942, 22:295.
——— and JONES, C. P. *J. Bacteriol.*, 1940, 39:609.
——— *J. Bacteriol.*, 1942, 22:295.
MIALE, J. B. *Arch. Path.*, 1943, 35:427.
MORRIS, A. A., KALZ, G. G., and LOTSPEICH, E. S. *Arch. Neur. & Psych.*, 1945, 54:361.
NEGRONI, P. *Rev. Inst. Bact.*, Dept. Nac. Hygiene, 1936, 7:568.
——— *Ann. parasit. hum. et comp.*, 1936, 14:511.
——— Y FISCHER, I. *Rev. Inst. Bact.*, 1941, 10:334.
NYE, R. N., ZERFAS, L. G., and CORNWELL, M. A. *Am. J. Med. Sci.*, 1928, 175:153.
POLAYES, S. H., and EMMONS, C. W. *J.A.M.A.*, 1941, 117:1533.
ROBIN, C. *Histoire naturelle des végétaux parasites qui croissent sur l'homme et sur animaux vivants.* J. B. Baillière, Paris, 1853.
ROBINSON, S. S., and TASKER, S. *Arch. Derm. & Syph.*, 1947, 55:85.
SCHNOOR, T. G. *Am. J. Trop. Med.*, 1939, 19:163.
SKINNER, C. E. *Bacteriol., Rev.*, 1947, 11:227.
SMITH, L. W., and SANG, M. E. *J. Infect. Dis.*, 1933, 53:187.
STONE, K., and GARROD, L. P. *J. Path. & Bacteriol.*, 1931, 34:429.
WESSLER, S., and BROWNE, H. R. *Ann. Int. Med.*, 1945, 22:886.
WIKLER, A., WILLIAMS, E. G., DOUGLASS, E. D., EMMONS, C. W., and DUNN, R. C. *J.A.M.A.*, 1942, 119:333.
YEN, A. C. H., and KUROTCHKIN, T. J. *J. Infect. Dis.*, 1935, 56:238.
ZIMMERMAN, S. L., FRUTCHEY, L., and GIBBES, J. H. *J.A.M.A.*, 1947, 135:145.
ZOPF, W. *Die Pilze*, E. Trewendt, Breslau, 1890.

Blastomicosis

BENHAM, R. W. *Arch. Derm. & Syph.*, 1934, 30:385.
BERNHEIM, R. *J. Bacteriol.*, 1942, 44:533.
CONANT, N. F. *Proc. Sixth Pacific Sci. Cong.*, 1939, 5:853.
FOSHAY, L., and MADDEN, A. G., JR. *Am. J. Trop. Med.*, 1942, 22:565.
FOSTER, J. W., and WOODRUFF, H. B. *Arch. Biochem.*, 1943, 3:241.
GILCHRIST, T. C. *Johns Hopkins Hosp. Rept.*, 1896, 1:269.
——— and STOKES, W. R. *J. Exper. M.*, 1898, 3:53.
HEILMAN, F. R. *J. Invest. Derm.*, 1947, 9:87.
KEENEY, E. L., AJELLO, L., and LANKFORD, E. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1944, 75:440.
JOHNSON, J. R., BRUCE, W. F., and DUTCHER, J. D. *J. Am. Chem. Soc.*, 1943, 65:2005.
MARTIN, D. S. *J. Invest. Derm.*, 1941, 4:471.
——— and SMITH, D. T. *Am. Rev. Tuberc.*, 1939, 39:275, 488.
——— *J. Lab. & Clin. Med.*, 1936, 21:1289.
NOOJIN, R. O., and CALLAWAY, J. L. *Arch. Derm. & Syph.*, 1943, 47:620.
PECK, R. L. *J. Am. Chem. Soc.*, 1942, 64:487.
——— *J. Biol. Chem.*, 1940, 134:403.
——— and HAUSER, C. R. *J. Am. Chem. Soc.*, 1938, 60:2599.
———, MARTIN, D. S., and HAUSER, C. R. *J. Immunol.*, 1940, 38:449.

Blastomicosis sudamericana

ALMEIDA, F. P. *Ann. Fac. Med. São Paulo*, 1930, 5:125.
——— and FERNANDES, M. *Ann. Fac. Med. São Paulo*, 1944, 20:155.
——— and LACAZ, C. S. *Ann. Fac. Med. São Paulo*, 1942, 18:125.
——— and FORATTINI, O. P. *Resenha Clinico-Cientifica*, 1946, 15:1.
——— and NETO, C. F. *Ann. Fac. Med. São Paulo*, 1942, 18:137.
———, LACAZ, C. S., and CUNHA, A. C. *Arch. Brasil. Med.*, 1945, 35:81.
———, RIBERO, D. O., ASHCAR, H., LACAZ, C. S., and SAMPAIO, S. A. *O Hospital*, 1946, 29:109.
CARINI, A. *Rev. Soc. Sci. São Paulo*, 1908, 3:120.
CONANT, N. F., and HOWELL, A., JR. *J. Invest. Derm.*, 1942, 5:353.
DÉCOURT, L. V., ALMEIDA, F. P., NETO, M. R., and LACAZ, C. S. *Revista do Hospital das Clinicas*, 1946, 1:247.
FONSECA, O. DA. *Bol. do Inst. clin. quir.*, 1928, 4:469.
——— *Rev. Med.-cir. do Brasil*, 1929, 37:124.
LACAZ, C. S. *Arch. Urug. Med. Cir. Esp.*, 1945, 27:167.
LUTZ, A. *Brasil Medico*, 1908, 22:121, 141.
MOORE, M. *Arch. Derm. & Syph.*, 1938, 38:163.
——— *Revista de Biol. e Higiene*, 1935, 6:148.
NIÑO, F. L. *Bol. Inst. Clin. Quir.*, 1946, 22:7.
NEGRONI, P. *Revista Argen. Dermat.*, 1946, 50:223.
OLIVEIRA RIBEIRO, D. *Pub. Med.*, 1940, 22:36.
——— *Rev. Paulista de Med.*, 1942, 20:392.
SPLENDORE, A. *Bul. Soc. Path. exot.*, 1912, 5:313.

Coccidioidomicosis

ARNOLD, W. T., and LEVY, M. D. *South. Med. J.*, 1946, 39:609.
ARONSON, J. D., SAYLOR, R. M., and PARR, E. I. *Arch. Path.*, 1942, 34:31.
BAKER, E. E., and SMITH, C. E. *J. Infect. Dis.*, 1942, 70:51.
———, MRAK, E. M., and SMITH, C. E. *Farlowia*, 1943, 1:199.
COX, A. J., and SMITH, C. E. *Arch. Path.*, 1939, 27:717.
DICKSON, E. C. *Calif. & West. Med.*, 1937, 47:151; *Arch. Int. Med.*, 1937, 59:1029.
——— and GIFFORD, M. A. *Arch. Int. Med.*, 1938, 62:853.
EMMONS, C. W. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1942, 57:109.
FORBUS, W. D., and BESTEBREURTJE, A. M. *The Military Surgeon*, 1946, 99:654.
GIFFORD, M. A. *Ann. Rept. Kern County Health Dept.*, 1935-36, p. 22.
GOLDSTEIN, D. M., and MCDONALD, J. B. *J.A.M.A.*, 1944, 124:557.
HASSID, W. Z., BAKER, E. E., and MCCREADY, R. M. *J. Biol. Chem.*, 1943, 149:303.
HIRSCH, E. F., and D'ANDREA, D. *J. Infect. Dis.*, 1927, 40:634, 638.
——— and BENSON, H. *J. Infect. Dis.*, 1927, 40:629.
JORGE, J. M., NIÑO, F. L., and LATIENDA, R. I. *La Prensa Med. Argentina*, 1946, 33:630.
OPHÜLS, W., and MOFFITT, H. C. *Philadelphia Med. J.*, 1900, 5:1471.
——— *J. Exper. M.*, 1905, 6:443.
POSADAS, A. *An. Circ. Med. Argentine*, 1892, 15:585.
RIXFORD, E. *Occidental Med. Times*, 1894, 8:704.
——— and GILCHRIST, T. C. *Johns Hopkins Hosp. Rep.*, 1896, 1:209.
ROESSLER, W. G., HERBST, E. J., MCCULLOUGH, W. G., MILLS, R. C., and BREWER, C. R. *J. Infect. Dis.*, 1946, 79:12.
SMITH, C. E., and BAKER, E. E. *Weekly Bull. Calif. Dept. Pub. Health*, 1941, 20:113.
———, BEARD, R. R., WHITING, E. G., and ROSENBERGER, H. G. *Am. J. Pub. Health*, 1946, 36:1394.
———, ROSENBERGER, H. G., and WHITING, E. G. *J.A.M.A.*, 1946, 132:833.
——— *Am. Rev. Tuberc.*, 1948 (en prensa).
SMITH, H. *Am. J. Path.*, 1948, 24:223.
SMITH, D. T., and HARRELL, E. R., JR. *Am. Rev. Tuberc.*, 1948, 57:368.
STEWART, R. A., and MEYER, K. F. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1932, 29:937.
——— and KIMURA, F. *J. Infect. Dis.*, 1940, 66:212.
STILES, G. W., and DAVIS, C. L. *J.A.M.A.*, 1942, 119:765.
WARING, J. J. Personal Communication, 1948.
WERNICKE, R. *Centralbl. f. Bakt.*, 1892, 12:859.

Histoplasmosis

BIRGE, R. F., and RISER, W. H. *North Am. Vet.*, 1945, 26:281.
CHRISTIE, A., and PETERSON, J. C. *Am. J. Pub. Health*, 1945, 35:1131.
CROSS, F. W., and HOWELL, A., JR. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1948, 63:179.
CURTIS, A. C., and GREKIN, J. N. *J.A.M.A.*, 1947, 134:1217.
DARLING, S. T. *J.A.M.A.*, 1906, 46:1283.
——— *Maryland Med. J.*, 1907, 50:125.
——— *Arch. Int. Med.*, 1908, 2:107.
——— *J. Exper. M.*, 1909, 11:515.
DA ROCHA-LIMA, H. *Arch. f. Schiffs. u. Tropen-Hug.*, 1912, 16:79.
——— *Zentr. f. Bakt. u. Parasitenk.*, 1913, 67:233.
DEMONBREUN, W. A. *Am. J. Trop. Med.*, 1934, 14:93; 1939, 19:565.
EMMONS, C. W., OLSON, B. J., and ELDRIDGE, W. W. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1945, 60:1383.
———, BELL, J. A., and OLSON, B. J. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1947, 62:1642.
FURCOLOW, M. L., HIGH, R. H., and ALLEN, M. F. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1946, 61:1132.
———, MANTZ, H. L., and LEWIS, I. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1947, 62:1711.
———, BUNNELL, S. A., and TENENBERG, D. J. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1948, 63:169.
HANSMANN, G. H., and SCHENKEN, J. R. *Science*, 1933, 77:Suppl. No. 2002, p. 8.
——— *Am. J. Path.*, 1934, 10:731.
KEENEY, E. L., AJELLO, L., and LANKFORD, E. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1944, 75:410.
MOORE, M., and JORSTAD, L. H. *Ann. Otol., Rhin. & Laryng.*, 1943, 52:779.
NEGRONI, P. *Rev. Inst. Bact.*, 1940, 9:239.
PALMER, C. E. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1945, 60:513.
——— *U. S. Pub. Health Rep.*, 1946, 61:475.
PARSONS, R. J., and ZARAFONETIS, C. J. D. *Arch. Int. Med.*, 1945, 75:1.
PRIOR, J. A., and ALLEN, M. F. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1947, 62:1608.
SALVIN, S. B. *J. Bacteriol.*, 1947, 54:655.
——— *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1947, 66:342.
SCHEFF, G. J. *Yale J. Biol. Med.*, 1945, 18:41.
SEIBOLD, H. R. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1946, 109:209.
SONTAG, L. W., and ALLEN, J. E. *J. Pediat.*, 1947, 30:657.

TENENBERG, D. J., and HOWELL, A., JR. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1948, 63:163.
VAN PERNIS, P. A., BENSON, M. E., and HOLINGER, P. H. *J.A.M.A.*, 1941, 117:436.

Geotricosis

ALMEIDA, F. P., and LACAZ, C. S. *Folia Clinica Biologica*, 1940, 12:41.
——— and BARROS, O. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 1945, 5:337.
BENHAM, R. W., and HOPKINS, A. M. *Arch. Derm. & Syph.*, 1933, 28:532.
CIFERRI, R., and REDAELLI, P. *Ann. Mycologici*, 1929, 27:243.
CONANT, N. F., MARTIN, D. S., SMITH, D. T., BAKER, R. D., and CALLAWAY, J. L. *Manual of Clinical Mycology*, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1944.
CROFT, C. C., and BLACK, L. A. *J. Lab. & Clin. Med.*, 1938, 23:1259.
DODGE, C. W. *Medical Mycology*, C. V. Mosby Co., St. Louis, 1935, p. 217.
FISHER, C. V., and ARNOLD, L. *Univ. Illinois Bull.*, 1936, 33:1.
KUNSTADTER, R. H., PENDERGRASS, R. C., and SCHUBERT, J. H. *Am. J. Med. Sci.*, 1946, 211:583.
LANGERON, M., and TALICE, R. V. *Ann. de parasitol, hum. comp.*, 1932, 10:1.
LINK. *Mag. Ges. Natur. Freunde Berlin*, 1809, 3:17.
MOORE, M. *Ann. Missouri Bot. Gard.*, 1934, 21:349.
NEGRONI, P., and FISCHER, I. *Rev. Inst. Bact.*, 1940, 9:305.
SCHNOOR, T. G. *Am. J. Trop. Med.*, 1939, 19:163.
SMITH, D. T. *J. Thoracic Surg.*, 1934, 3:241.

CAPITULO LXVII

ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR HONGOS QUE SE LOCALIZAN EN LA PIEL Y TEJIDO SUBCUTANEO

ESPOROTRICOSIS

La esporotricosis, causada por *Sporotrichum schenckii*, es una infección progresiva crónica de la piel y tejido subcutáneo, caracterizada por un "chancro esporotricótico" en el sitio de la inoculación, seguido de la aparición de nódulos subcutáneos a lo largo de los linfáticos que drenan las lesiones primarias.

Schenck (1898), en Baltimore, aisló un hongo, *Sporotrichum sp.*, de un paciente que presentaba abscesos subcutáneos rebeldes en el brazo. Hektoen y Perkins (1900) publicaron un segundo caso en Estados Unidos y denominaron al hongo *Sporothrix schenckii*. Beurmann y Ramond (1903) encontraron infecciones similares en Francia y Matruchot y Ramond (1905) denominaron al hongo *Sporotrichum beurmanni*. Se han descrito otras diversas especies de *Sporotrichum* en infecciones del hombre y de animales, pero muchos investigadores las han reducido a sinónimos de *S. schenckii*.

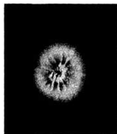


FIG. 206. SPOROTRICHUM SCHENCKII.
Colonia en agar glucosado de Sabouraud a la temperatura de la habitación durante 12 días.

Morfología. *Sporotrichum schenckii* aparece, cuando se ve en el pus de las lesiones humanas, como un cuerpo fusiforme pequeño, grampositivo, de 1,5 a 4 μ; en los animales infectados experimentalmente se encuentra en los polinucleares neutrófilos o libre en el pus. La fase fusiforme o tisular del hongo se ve rara vez en los productos (pus o biopsias) de las lesiones humanas, por lo cual el diagnóstico suele confirmarse por cultivo.

Características de cultivo. *S. schenckii* crece fácilmente en agar glucosado de Sabouraud a la temperatura de la habitación o en agar-sangre a 37° C. En agar glucosado de Sabouraud el desarrollo aparece en 4-5 días en forma de colonias pequeñas, blancas o color crema, que aumentan de tamaño rápidamente, haciéndose plumosas y arrugadas. Algunas cepas se conservan de color crema; otras adquieren pigmentación morena o negra (fig. 206). Tales colonias son muy características y por ellas se puede establecer el diagnóstico. Al microscopio, el micelio tiene un diámetro de 1,5 a 2 μ, con ramas laterales de longitud variable que soportan racimos (2-15) de conidios piriformes de 2-4 por 2-6 μ (fig. 207). Tales esporas pueden estar también adheridas directamente a los lados de las hifas.

Cuando se hacen los cultivos en agar-cistina a 37° C. (Campbell, 1945), las colonias llegan a ser blandas, de tipo levadura, compuestas de cuerpos fusiformes similares a los que se ven en las lesiones de los animales infectados (fig. 208).

Las diferentes cepas aisladas varían en su poder de hacer fermentar los azúcares (Meyer y Aird, 1915); la mayor parte de las cepas liquidan lentamente la gelatina.

Resistencia. *S. schenckii* muere en una hora a 56° C. La sulfanilamida y la sulfapiridina sódica inhiben el desarrollo del hongo en concentraciones de 500-1 000 mg por 100 c.c. de agar de Sabouraud (Noojin y Callaway, 1944). Según Katzman y colaboradores (1944), la clavacina inhibe *S. schenckii;* la penicilina no tiene acción (Keeney y col., 1944).

Metabolitos. No hay referencias de que se hayan encontrado *endotoxinas* ni *exotoxinas.*

Estructura antigénica. En los sueros de personas con esporotricosis y en el



FIG. 207.

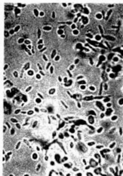


FIG. 208.

FIG. 207. SPOROTRICHUM SCHENCKII.

Racimos de conidias piriformes en los extremos de los conidióforos (× 650). (Según Conant y col., *Manual of Clinical Mycology*, W. B. Saunders Co., Filadelfia, 1944.)

FIG. 208. SPOROTRICHUM SCHENCKII.

Células fusiformes de un cultivo en agar-sangre-cistina a 37° C. (× 762).

de animales infectados experimentalmente pueden demostrarse aglutininas. Moore y Davis (1918), Widal y colaboradores (1910), Du Toit (1942) y otros han señalado que las esporas aglutinan a títulos tan altos como 1:600 con los sueros de personas infectadas. Davis (1913), Meyer (1915), Moore y Davis (1918), y, más recientemente, Lurie (1948) han demostrado por pruebas de absorción de aglutininas y de aglutinación que los *Sporotrichum* aislados de diferentes orígenes son similares antigénicamente. Widal y colaboradores (1910) comunicaron la aglutinación de las esporas de *Sporotrichum* por sueros de pacientes con aftas y actinomicosis; Du Toit (1942) comprobó que las esporas de *Sporotrichum* eran aglutinadas por sueros humanos normales.

Widal y colaboradores (1910) demostraron anticuerpos fijadores del complemento en casos de esporotricosis, pero no atribuyeron valor práctico a la reacción de fijación del complemento (Du Toit, 1942).

Las inyecciones intracutáneas de suspensiones salinas de cultivos muertos producen cutirreacciones positivas a las 24 horas (Du Toit, 1942).

Infecciones espontáneas en animales. Se han encontrado infecciones espontáneas en caballos y mulos (Page, Frothingham y Paige, 1910; Sutton, 1911; Meyer, 1915), ratas (Lutz y Splendore, 1907) y perros (Gougerot y Caraven, 1908). Se han producido infecciones humanas por contacto con animales infectados o con sus productos (Meyer, 1915) y también por mordedura de ratón (Moore y Davis, 1918) o de rata (Anderson y Spector, 1932) infectados.

Infección experimental en animales de laboratorio. Ratones, ratas, cobayos, gatos y perros pueden infectarse experimentalmente por inoculación intraperitoneal. El ratón y la rata sufren una orquitis intensa en la cual puede encontrarse el hongo por frotis o cultivo.

Tipos clínicos de infección en el hombre. En la monografía de Beurmann y Gougerot (1912) se dividió la esporotricosis en seis tipos clínicos: 1) linfático; 2) diseminado; 3) epidérmico; 4) mucoso; 5) esquelético; 6) visceral. A éstos debe añadirse 7) la forma seudoneoplásica descrita por Smith (1945). El tipo de infección linfática localizada es el que se ve con mayor frecuencia en los Estados Unidos. La lesión primaria ocurre en la mano o en el brazo, donde el hongo penetra por traumatismo. La lesión empieza como un nódulo duro al principio, de color rosado, que cambia lentamente a purpúreo, y se convierte en úlcera necrótica negra. Los linfáticos que drenan la zona de la lesión se endurecen y aparecen cadenas de nódulos subcutáneos a lo largo de los vasos linfáticos. Tales nódulos secundarios pueden reblandecerse y originar lesiones ulcerosas crónicas. Los pacientes de esporotricosis tienen, si acaso, poca fiebre, y no presentan aspecto enfermizo; los ganglios linfáticos regionales no suelen estar afectados, con la posible excepción del epitroclear. Las formas diseminada y visceral se dan en Francia más que en Estados Unidos.

Transmisión. *Sporotrichum schenckii* se encuentra en la Naturaleza como saprófito y puede infectar tanto al hombre como a los animales. El hombre puede infectarse por heridas con productos vegetales como espinas y púas, por el manejo de animales infectados o por apósitos contaminados. La esporotricosis en ocasiones tiene importancia como enfermedad ocupacional (Foerster, 1926). Du Toit (1942) publicó 650 casos ocurridos en las minas de oro de Sudáfrica. Los varones se infectan más a menudo que las hembras, en especial los agricultores, campesinos y horticultores.

Productos biológicos. Pueden prepararse vacunas de la fase tisular de *S. schenckii* obtenida en cultivos en agar-cistina a 37° C. Se pueden utilizar suspensiones salinas, inactivadas por el calor, para reacciones cutáneas y de aglutinación y para la desensibilización.

Tratamiento. El yoduro potásico tiene acción curativa específica en la esporotricosis. Deben emplearse grandes dosis, mantenidas durante cuatro a seis semanas después de la curación aparente. En ocasiones, resulta necesaria la vacunoterapia suplementaria si el paciente ha adquirido un alto grado de hipersensibilidad.

CROMOBLASTOMICOSIS

Dermatitis verrugosa, cromomicosis

La cromoblastomicosis es una infección de la piel caracterizada por la aparición de lesiones cutáneas verrugosas.

La enfermedad está causada por tres hongos distintos, como los siguientes: *Hormodendrum pedrosoi, Hormodendrum compactum* y *Phialophora verrucosa.*

Pedroso (1911), en el Brasil, fué el primero en observar la enfermedad y vió en un corte de biopsia los cuerpos pardoobscuros característicos. Si bien este autor aisló un hongo pigmentado de obscuro y conoció la naturaleza micótica de la enfermedad, no publicó sus observaciones (Pedroso y Gomes, 1920). Lane (1915) y Medlar (1915), en Boston, señalaron un hongo nuevo, *Phialophora verrucosa,* que aislaron de las lesiones de las nalgas de un paciente italiano en cuyos tejidos encontraron los cuerpos pardoobscuros esféricos. Pedroso y Gomes (1920) han publicado cuatro casos brasileños de "dermatitis verrugosa" causada por *P. verrucosa.* Brumpt (1922), sin embargo, volvió a denominar el hongo *Hormodendrum pedrosoi,* y Terra y colaboradores (1922) llamaron a la enfermedad cromoblastomicosis. Se encontró más tarde que uno de los hongos aislados de los cuatro casos del Brasil era *P. verrucosa* (Moore y Almeida, 1935). El tercer agente etiológico identificado con esta enfermedad fué descrito en Puerto Rico como *Hormodendrum compactum* por Carrión (1935). Carrión y Silva (1947) han publicado un estudio completo de cromoblastomicosis.



Fig. 209. Hormodendrum pedrosoi.

Corte de la piel, mostrando célula gigante que contiene cuerpos micóticos morenos (× 736).

Morfología. Todos los hongos relacionados con la cromoblastomicosis aparecen en el pus, costras y cortes de tejidos, como cuerpos esféricos, de color pardo obscuro, de pared gruesa, de 6 a 12 μ de diámetro, que se dividen más bien por tabicación que por gemación (fig. 209). Los géneros y especies diferentes sólo se pueden identificar en los cultivos, donde aparece la formación típica de esporas.

Características de cultivo. *Hormodendrum pedrosoi* aparece en agar glucosado de Sabouraud, a la temperatura de la habitación, en forma de colonias planas de desarrollo lento con micelio aéreo corto, aspecto de fieltro, y color verde obscuro hasta pardo o negro (fig. 210). Al microscopio se ven tres tipos de formación de esporas: 1) cadenas ramificadas de conidias oliváceas ovoides que salen de conidióforos de longitud variable, tipo *Hormodendrum* (fig. 211); 2) conidias ovoides únicas adheridas a los lados de los extremos de los conidióforos en forma de maza, tipo-*Aerotheca* (fig. 212); 3) conidias pequeñas sostenidas en el extremo en forma de taza de conidióforos ampulares, tipo *Phialophora* (similar a la fig. 216). La prominencia de cada tipo de espora varía según la cepa particular.



Fig. 210. Hormodendrum pedrosoi.

Colonia en agar-glucosa de Sabouraud a la temperatura de la habitación durante 20 días.



FIG. 211.



FIG. 212.

FIG. 211. HORMODENDRUM PEDROSOI.

Conidióforo de tipo *Hormodendrum* (× 800). (Según Conant y col., *Manual of Clinical Mycology*, W. B. Saunders Co., Filadelfia, 1944.)

FIG. 212. HORMODENDRUM PEDROSOI.

Conidióforo de tipo *Acrotheca* (× 800). (Según Conant y col., *Manual of Clinical Mycology*, W. B. Saunders Co., Filadelfia, 1944.)

Los tres tipos de producción de esporas que muestra *H. pedrosoi* en los cultivos han causado confusión al clasificar estos hongos y se han hecho varios intentos para colocar a *H. pedrosoi* en un género único (Moore y Almeida, 1936; Carrión, 1942; Binford, Hess y Emmons, 1944; Carrión y Silva, 1947).



FIG. 213. HORMODENDRUM COMPACTUM.

Colonia en agar glucosado de Sabouraud a la temperatura de la habitación durante 41 días. (Según Conant y col., *Manual of Clinical Mycology*, W. B. Saunders Co., Filadelfia, 1944.)

Hormodendrum compactum, en agar glucosado de Sabouraud, a la temperatura de la habitación, produce una colonia frágil, apelotonada, de desarrollo lento, cubierta con micelio aéreo grosero, de color oliváceo obscuro (figura 213). Al microscopio se ven conidias subesféricas sostenidas formando cadenas compactas apretadas en los extremos de los conidióforos (fig. 214). Este hongo también produce un conidióforo tipo-*Phialophora*.

Phialophora verrucosa en agar glucosado de Sabouraud, a la temperatura de la habitación, produce una colonia moreno obscura o negra, de desarrollo lento, con micelio aéreo oliváceo o gris (fig. 215). Al microscopio se observa el desarrollo característico de las conidias en las

estructuras en forma de taza en los extremos de los conidióforos, que tienen forma de botella; todas estas características sirven para establecer el diagnóstico de esta especie (fig. 216).

Solamente se ha investigado la actividad bioquímica de algunas cepas de *H. pedrosoi;* no fermentan los azúcares, pueden liquidar la gelatina y generalmente no alteran la leche (Meriin, 1930; Takahashi, 1937; Mazza y Niño, 1939; Castro-Palomino y col., 1941).

Nada se sabe acerca de la actividad bioquímica de *Hormodendrum compactum; Phialophora verrucosa* produce algo de ácido en glucosa y dextrina, no tiene acción sobre la leche tornasolada ni produce indol (Medlar, 1915).

Resistencia. Los tres hongos mueren en una hora a 56° C. El sulfatiazol sódico y la sulfameracina sódica inhiben *H. pedrosoi* en concentración de 100 mg por ciento, pero la penicilina no tiene acción (Keeney y col., 1944). El caprato sódico y el undecilenato sódico son fungostáticos y fungicidas para *H. pedrosoi* (Keeney y colaboradores, 1944).



FIG. 214. HORMODENDRUM COMPACTUM.

Conidióforo con cabeza de esporas compactas (× 816). (Según Conant y col., *Manual of Clinical Mycology*, W. B. Saunders Co., Filafelfia, 1944.)

Metabolitos. No se han descubierto *exotoxinas* ni *endotoxinas* para estos hongos.

Estructura antigénica. Los extractos de cultivo de *H. pedrosoi* dan cutirreacciones positivas en las personas infectadas (Meriin, 1932-38). Meriin (1930-32), Baliña y col. (1932) y Martin y colaboradores (1936), han referido reacciones de fijación del complemento positivas con sueros humanos. Meriin (1930-32) consideró que la reacción no era específica, pero Martin y colaboradores (1936) encontraron que diversos antígenos micóticos y sueros de hombres no infectados daban resultado negativo en las reacciones testigo. Los últimos autores comprobaron también que existía estrecha relación antigénica entre los hongos morfológicamente diferentes, *H. pedrosoi* y *P. verrucosa*, por cuanto un suero de alto título de un paciente con cromoblastomicosis, causada por *H. pedrosoi*, tenía anticuerpos fijadores del complemento para ambos. Los conejos inmunizados con *H. pedrosoi, H. compactum* y *P. verrucosa* producían anticuerpos fijadores del complemento para el antígeno homólogo; el suero de conejo anti-*pedrosoi* tenía también anticuerpos fijadores del complemento para *H. compactum* y *P. verrucosa;* el suero de conejo anti-*compactum* tenía anticuerpos fijadores del complemento para *H. pedrosoi* y *P. verrucosa;* pero, en cambio, el suero de conejo anti-*verrucosa*, solamente contenía



FIG. 215. PHIALOPHORA VERRUCOSA.

Colonia en agar glucosado de Sabouraud a la temperatura de la habitación durante 20 días.

anticuerpos fijadores del complemento para el antígeno homólogo (Conant y Martin, 1937).

Infecciones espontáneas en animales. No se ha publicado que estos hongos causen infecciones naturales en los animales; la cromoblastomicosis es una enfermedad humana.

Infección experimental en animales de laboratorio. Se han inoculado diversos tipos de animales, como ratones, ratas, conejos, cobayos, perros, monos, palomas y ranas en un intento para reproducir experimentalmente la cromoblastomicosis. En los animales no se ha provocado una enfermedad progresiva crónica similar a la que se ve clínicamente en el hombre, pero de las inoculaciones experimentales han resultado infecciones locales y generales de tipo granulomatoso (Carrión y Silva, 1947).

Tipos clínicos de infección en el hombre. La cromoblastomicosis es una infección unilateral, generalmente del pie y de la pierna, causada por la penetración del hongo por traumatismo. La lesión empieza en la piel como una pápula que evoluciona lentamente, durante meses o años, y da lugar poco a poco a formaciones verrugosas, de tipo coliflor, con aparición de numerosas lesiones satélites. Solamente en dos casos se han referido metástasis (Montpellier y Catanei, 1927; Carrión y Koppisch, 1933). Las lesiones precoces que no presentan el aspecto verrugoso típico, o las lesiones que aparecen en la mano, brazo, cuello, cara, etc., pueden no hacer sospechar su origen micótico hasta que se encuentran en los cortes de biopsia los cuerpos morenos típicos (Weidman y Rosenthal, 1941).



FIG. 216. PHIALOPHORA VERRUCOSA. Conidióforo típico (× 1 500).

Transmisión. *Phialophora verrucosa* existe en la Naturaleza como uno de los diversos hongos que coloran los troncos, maderas cortadas y pulpa de madera, de cuyos orígenes se ha aislado e identificado con el nombre de *Cadophora americana* (Kress y col., 1925; Lagerberg y col., 1927). Se ha demostrado que los hongos aislados de enfermos de cromoblastomicosis y de la Naturaleza son morfológicamente idénticos (Conant, 1937) y, asimismo, idénticos desde el punto de vista antigénico (Martin, 1938). La mayor parte de los casos tienen comienzo por lesiones del pie, y casi todas las infecciones se encuentran entre los trabajadores agrícolas.

Todas las razas, desde luego, son susceptibles y los varones se infectan con bastante más frecuencia que las mujeres.

Tratamiento. Las lesiones pequeñas discretas se pueden extirpar o tratar por electrocoagulación. Las lesiones extensas se tratan mejor con yoduro sódico administrado intravenosamente, o yoduro potásico por la boca; las lesiones locales, con radioterapia. La iontoforesis, empleando sulfato de cobre, se ha utilizado con cierto resultado (Martin y col., 1936). Las sulfonamidas se pueden emplear para combatir las infecciones bacterianas secundarias; debe ensayarse la sulfameracina, ya que Keeney y colaboradores (1944) han demostrado la eficacia de esta droga *in vitro*.

MADUROMICOSIS

La maduromicosis, debida al *Monosporium apiospermum* y a otros hongos filamentosos, es una infección unilateral de lento progreso del tejido subcutáneo del pie, caracterizada por curso crónico al causar infección y formar fístulas múltiples.

Colebrook (1864), del dispensario de Madura, en la India, empleó el término "pie de Madura" para indicar una infección de los pies que se ve con frecuencia en aquel país y que había sido descrita previamente por Gill (1842). Vandyke-Carter (1860) estableció la naturaleza micótica de la infección y propuso el nombre de *micetoma* (tumor micótico). Se demostró que especies de *Nocardia (Actinomyces)*, así como otras de hongos filamentosos típicos (mohos), podían ser los agentes causales de la enfermedad. Pinoy (1913) sugirió que la infección fuera denominada "Actinomicosis" cuando el hongo causal fuera un *Actinomyces* y "micetoma verdadero" cuando la infección estuviera causada por hongos superiores. De acuerdo con ello, Chalmers y Archibald (1916) propusieron la división en: 1) micetoma actinomicótico, y 2) maduromicosis. Esta última clasificación es ahora de uso general.



Fig. 217. Monosporium apiospermum.
Corte de tejido del pie con un gránulo (× 112). (Según Fienberg, *Am. Jour. Clin. Path.*, 14:1944.)

Aunque la maduromicosis suele considerarse como una enfermedad de los trópicos, se han registrado casos diversos en las zonas templadas. En Estados Unidos, Fienberg (1944) publicó un total de 31 casos y desde entonces se han comunicado otros por Symmers y Sporer (1944), Conant y colaboradores (1944), y Twining, Dixon y Weidman (1946). Se han descrito los siguientes hongos: *Allescheria boydii, Madurella americana, Madurella lackawanna, Madurella ikedai, Phialophora jeanselmei, Aspergillus nidulans, Cephalosporium granulomatis* y *Monosporium apiospermum*. Este último, que ha sido aislado de siete casos de maduromicosis en Estados Unidos, se describirá como uno de los agentes portadores de la enfermedad.

Morfología. *Monosporium apiospermum* se encuentra en los tejidos o exudados serosanguinolentos de las fístulas como un gránulo blanco amarillento, lobulado, de 0,5 a 2 mm de diámetro. Al microscopio, el gránulo se compone de hifas anchas tabicadas, de 2 a 4 μ de diámetro, con numerosas clamidosporas, particularmente alrededor de la periferia del gránulo (fig. 217).

Características de cultivo. En agar glucosado de Sabouraud, a la temperatura de la habitación, la colonia es al principio blanca y algodonosa, después el micelio

aéreo se hace grisáceo (fig. 218). Microscópicamente, las conidias aparecen sólo en los extremos de los conidióforos, en ocasiones a los lados de las hifas o en racimos pequeños (2-3) (fig. 219). Las esporas son ovoides o en forma de maza, con base truncada en el punto de unión de los conidióforos, y miden 5 a 7 × 8 a 10 μ.



Fig. 218. Monosporium apiospermum. Colonia en agar glucosado de Sabouraud a la temperatura de la habitación durante 15 días.

Emmons (1944) ha demostrado que la cepa canadiense de *M. apiospermum* no solamente producía las formas de esporas imperfectas antes descritas, sino que también producían peritecios y ascas que permitían identificar la cepa como *Allescheria boydii*, la cual fué aislada de maduromicosis por Boyd y Crutchfield (1921) y descrita por Shear (1922). Por lo tanto, según las reglas de la nomenclatura botánica, debe abandonarse el nombre *M. apiospermum* por cuanto representa simplemente el estado conidial de un hongo ascomiceto.

Resistencia. *Monosporium apiospermum* muere en una hora a 56° C. No la afectan la sulfanilamida, el sulfatiazol, la sulfadiacina ni la sufaguanidina (Wolf, 1946), que son ineficaces para el tratamiento.

Metabolitos. *No se han demostrado exotoxinas ni endotoxinas.*

Estructura antigénica. No se han hecho estudios serológicos con este hongo.

Infecciones espontáneas en animales. *M. apiospermum* no se ha aislado de animales.

Infección experimental en animales de laboratorio. Los conejos, ratones y cobayos inoculados intravenosa, subcutánea e intraperitonealmente han presentado poca o ninguna reacción por el hongo. Gammel y Moritz (1933) registraron infecciones en conejos que contenían inoculación intraarticular de suspensiones salinas.

Tipos clínicos de infección en el hombre. La infección se produce por la penetración del hongo en los tejidos del pie por traumatismo. Se desarrolla una infección lentamente progresiva, que dura semanas o meses, y evoluciona con formación de abscesos, edemas y fístulas supuradas que eliminan gránulos en líquido serosanguinolento. El pie se deforma o toma forma de maza; los huesos pequeños suelen presentar alteraciones proliferativas y zonas de destrucción. La infección permanece localizada, pero se extiende por invasión directa de los tejidos. No hay reacción general a menos que tenga lugar una infección bacteriana secundaria.



Fig. 219. Monosporium apiospermum. Conidias aisladas en los extremos de conidióforos (× 305). (Según Conant y col., *Manual of Clinical Mycology*. W. B. Saunders Co., Filadelfia, 1944).

Transmisión. La maduromicosis es una enfermedad de las partes expuestas del cuerpo, particularmente de los pies, a veces de la pierna (Shaw y Macgregor, 1935) y de la mano (Symmers y Sporer, 1944). Muchos hongos diferentes pueden causar la enfermedad (Conant y col., 1944). La fuente de infección es exógena, ya que más de la mitad de los pacientes refieren una historia de traumatismo, como pequeños arañazos, magulladuras o introducción de material extraño en la piel.

Tratamiento. La maduromicosis no responde al tratamiento por sulfonamidas, penicilina o estreptomicina. Algún paciente puede mejorar temporalmente con estas drogas porque eliminan infecciones bacterianas sobreañadidas. Alguno que otro enfermo, como el de Twining, Dixon y Weidman (1946), infectado con *Cephalosporium granulomatis*, puede mejorar con la penicilina. La mayor parte de los casos, sin embargo, requieren la amputación.

RINOSPORIDIOSIS

La rinosporidiosis, causada por *Rhinosporidium seeberi*, es una infección del hombre y de los animales domésticos caracterizada por la formación de pólipos pedunculados o sésiles, friables, en la mucosa de la nariz, nasofaringe, velo del paladar, conjuntivas oculares y más raramente en oído, vagina, pene o piel.

Seeber (1900), en Buenos Aires, publicó dos casos de infección de la nariz por protozoarios con formación de pólipos. El organismo fué llamado *Coccidium seeberia* por Wernicke, en 1903 (Allen y Dave, 1936), O'Kinealy (1903), en la India, publicó el tercer caso; el organismo fué llamado *Rhinosporidium kinealyi* por Minchin y Fantham (1905).

Posteriormente, Seeber (1912) señaló la identidad de estos dos organismos y se estableció el nombre de *R. seeberi*. Hasta el estudio clásico de Ashworth (1932) de material de pólipos nasales, el organismo fué considerado protozoario. Si bien este autor no pudo lograr cultivos puros, demostró la similitud morfológica entre el organismo y plantas rudimentarias como las *Chytridales*. No obstante, la posición de *R. seeberi* debe quedar por resolver hasta que se demuestre por cultivo.

En Estados Unidos se han publicado 12 casos. Caldwell y Roberts (1938) registraron seis y publicaron un séptimo. Pasternack y Alexander (1938), Ruchman (1939), Griffey (1939), Anderson y Byrnes (1939) y Arnold y Whildin (1942) publicaron casos adicionales.

Morfología. *R. seeberi* se encuentra en las masas polipoides como esporangios redondos de pared gruesa, de 40 a 300 μ de diámetro. Los esporangios maduros están llenos con cientos o miles de esporas, de 6 a 8 μ de diámetro (fig. 220).

Infecciones espontáneas en animales. Se han registrado infecciones espontáneas en animales domésticos como bóvidos, caballos y mulos (Mello, 1946).

Infección experimental en animales de laboratorio. No existen datos sobre inoculaciones logradas en animales.

Tipos clínicos de infección en el hombre. La infección ocurre en el hombre con mayor frecuencia en la mucosa de la nariz; iníciase con prurito, sin dolor, acompañado de secreción mucosa. Las lesiones sésiles se transforman en masas poliposas que sangran fácilmente cuando se traumatizan. Tales masas son pedunculadas y pueden colgar de la nariz o caer hacia atrás en la faringe posterior y causar obstrucción. Las masas polipoides son blandas, nodulares, de color rosa pálido a rojo púrpura, con pequeñas porciones opacas, blanquecinas (esporangios) distribuídas debajo de la superficie.

La infección de las conjuntivas puede ser mínima y pasar inadvertida por el paciente o puede alcanzar tamaño bastante para causar síntomas similares a los de cuerpos extraños. En las conjuntivas palpebral o bulbar se pueden ver masas granulares, rojizas, irregulares.

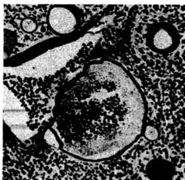


FIG. 220. RHINOSPORIDIUM SEEBERI.

Corte de un pólipo nasal con esporangios maduros e inmaduros (× 175). (Según Conant y col., *Manual of Clinical Mycology*, W. B. Saunders, Filadelfia, 1944.)

Transmisión. No se sabe con exactitud cómo se contrae la infección por *R. seeberi*. Los estudios epidemiológicos de gran número de casos, en la India, sugieren que la infección se contrae por agua estancada (Noronha, 1933; Mandlik, 1937). Por cuanto se conoce no hay transmisión de hombre a hombre o de animal a hombre.

Tratamiento. Generalmente, es eficaz la extirpación de las masas por disección y cauterización. Las recidivas son frecuentes cuando las masas se extirpan con asa de alambre. Como coadyuvante de la extirpación quirúrgica, el neostibosan (Bayer) puede resultar útil (Allen y Dave, 1936).

BIBLIOGRAFIA

Esporotricosis

ANDERSON, N. P., and SPECTOR, B. K. *J. Infect. Dis.*, 1932, 50:344.
BEURMANN, L. DE, and RAMOND, L. *Ann. de Derm. Syph.*, 1903, 4:678.
——— and GOUGEROT, H. *Les Sporotrichoses*, Libraire Felix Alcan, 825 pp., Paris, 1912.
CAMPBELL, C. C. *J. Bacteriol.*, 1945, 50:233.
DAVIS, D. J. *J. Infect. Dis.*, 1913, 12:140.
FOERSTER, H. R. *J.A.M.A.*, 1926, 87:1605.
GOUGEROT, H., and CARAVEN. *Presse Med.*, 1908, 16:337.
HEKTOEN, L., and PERKINS, C. F. *J. Exper. M.*, 1900, 5:77.
KATZMAN, P. A. y col. *J. Biol. Chem.*, 1944, 154:475.
KEENEY, E. L., AJELLO, L., and LANKFORD, E. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1944, 75:410.
LURIE, H. I. *Mycologia*, 1948, 40:106.

LUTZ, A., and SPLENDORE, A. *Ann. Ig. Sperim.*, 1907, 17:581.
——— *Centralbl. f. Bakt.*, 1907, 45:631.
MATRUCHOT, L., and RAMOND, L. *Compt. rend. Soc. Biol.*, 1905, 59:379.
MEYER, K. F. *J.A.M.A.*, 1915, 65:579.
——— and AIRD, J. A. *J. Infect. Dis.*, 1915, 16:399.
MOORE, J. J., and DAVIS, D. J. *J. Infect. Dis.*, 1918, 23:252.
NOOJIN, R. O., and CALLAWAY, J. L. *Arch. Derm. & Syph.*, 1944, 49:305.
PAGE, C. G., FROTHINGHAM, L., and PAIGE, J. B. *J. Med. Res.*, 1910, 23:137.
SCHENCK, B. R. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1898, 9:286.
SMITH, L. M. *South. Med. J.*, 1945, 38:505.
SUTTON, R. L. *Boston M. & S. J.*, 1911, 164:179.
TOIT, C. J. DU. *Transvaal Mine Med. Off. Assoc.*, 1942, 22:111.
WIDAL, F., ABRAMI, P., JOLTRAIN, E., BRISSAUD, E., and WEILL, A. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1910, 24:1.

Cromoblastomicosis

BALINA, P. L., BOSQ, P., NEGRONI, P., and QUIROGA, M. *Rev. Argent. de dermatosif.*, 1932, 16:369.
BINFORD, C. H., HESS, G., and EMMONS, C. W. *Arch. Derm. & Syph.*, 1944, 49:398.
BRUMPT, E. *Précis de Parasitologie*, 3rd ed., p. 1105, Masson et Cie., Paris, 1922.
CARRIÓN, A. L., and KOPPISCH, E. *Puerto Rico J. Pub. Health & Trop. Med.*, 1933, 9:169.
——— *Puerto Rico J. Pub. Health & Trop. Med.*, 1935, 10:543.
——— *Mycologia*, 1942, 34:424.
——— and SILVA, M. En Nickerson, W. J., *Biology of Pathogenic Fungi*, Chapt. 3, Chronica Botanica Co., Waltham, Mass., 1947.
CASTRO-PALOMINO, J., and ALFONSO-ARMENTEROS, J. *Rev. de med. y cir.*, Habana, 1941, 46:217.
CONANT, N. F. *Mycologia*, 1937, 29:597.
——— and MARTIN, D. S. *Am. J. Trop. Med.*, 1937, 17:553.
KEENEY, E. L., AJELLO, L., and LANKFORD, E. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1944, 75:377, 393, 410.
KRESS, O., HUMPHREY, C. J., RICHARDS, C. A., BRAY, M. W., and STAIDL, J. A. *U. S. Dept. Agric. Bull.*, No. 1928, April 1925, pp. 1-80.
LAGERBERG, T., LUNDBERG, G., and MELIN, E. *Svenska Skogsvards. Tidskr.*, 1927, 25:145.
LANE, C. G. *J. Cut. Dis.*, 1915, 33:840.
MARTIN, D. S., BAKER, R. D., and CONANT, N. F. *Am. J. Trop. Med.*, 1936, 16:593.
——— *Am. J. Trop. Med.*, 1938, 18:421.
MAZZA, S., and NIÑO, F. L. *Novena reunión Soc. argent. de pat. reg.*, 1939, 3:1571.
MEDLAR, E. M. *J. Med. Res.*, 1915, 32:507.
MERIIN, J. *Arch. f. Derm. u. Syph.*, 1930, 162:300; 1932, 166:722.
——— *Ann. de derm. et syph.*, 1938, 9:122.
MONTPELLIER, J., and CATANEI, A. *Ann. de derm. et syph.*, 1927, 8:626.
MOORE, M., and ALMEIDA, F. P. *Rev. de Biol. e Higiene*, 1935, 6:94.
——— *Ann. Missouri Bot. Gard.*, 1936, 23:543.
PEDROSO, A. 1911, en Pedroso, A., and Gomes, J. M., *Ann. paulistas de med. e cir.*, 1920, 11:53.
——— and GOMES, J. M. *Ann. paulistas de med. e cir.*, 1920, 11:53.
TAKAHASHI, Y. *Jap. J. Derm. & Urol.*, 1937, 41:31, 53.
TERRA, F., TORRES, M., FONSECA, O. DA, and LEÃO, A. E. A. *Brasil-Med.*, 1922, 2:363.
TWINING, H. E., DIXON, H. M., and WEIDMAN, F. D. *U. S. Naval Med. Bull.*, 1946, 46:417.
WEIDMAN, F. D., and ROSENTHAL, L. H. *Arch. Derm. & Syph.*, 1941, 43:62.

Maduromicosis

BOYD, M. F., and CRUTCHFIELD, E. D. *Am. J. Trop. Med.*, 1921, 1:215.
CHALMERS, A. J., and ARCHIBALD, R. G. *Ann. Trop. Med. & Parasit.*, 1916, 10:169.
COLEBROOK, L. 1864, en Chalmers, A. J., and Archibald, R. G., *Ann. Trop. Med. & Parasit.*, 1916, 10:169.
CONANT, N. F., MARTIN, D. S., SMITH, D. T., BAKER, R. D., and CALLAWAY, J. L. *Manual of Clinical Mycology*, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1944.
EMMONS, C. W. *Mycologia*, 1944, 36:188.
FIENBERG, R. *Am. J. Clin. Path.*, 1944, 14:239.
GAMMEL, J. A., and MORITZ, A. R. *Arch. Derm. & Syph.*, 1933, 27:100.
GILL, 1842, en Chalmers, A. J., and Archibald, R. G., *Ann. Trop. Med. & Parasit.*, 1916, 10:169.
PINOY, E. *Bull. Inst. Pasteur*, Paris, 1913, 11:929 and 977.
SHAW, R. M., and MACGREGOR, J. W. *Canad. Med. Assoc. J.*, 1935, 33:23.
SHEAR, C. L. *Mycologia*, 1922, 14:239.
SYMMERS, D., and SPORER, A. *Arch. Path.*, 1944, 37:309.
TWINING, H. E., DIXON, H. M., and WEIDMAN, F. D. *U. S. Naval Med. Bull.*, 1946, 46:417.
VANDYKE-CARTER, H. 1860, en Chalmers, A. J., and Archibald, R. G., *Ann. Trop. Med. & Parasit.*, 1916, 10:169.
WOLF, F. T. *Mycologia*, 1946, 38:213.

Rinosporidiosis

ANDERSON, B. W., and BYRNES, T. H. *Am. J. Ophthal.*, 1939, 22:1383.
ARNOLD, R., and WHILDIN, J. *Am. J. Ophthal.*, 1942, 25:1227.
ASHWORTH, J. H. *Trans. R. Soc. Edinburgh*, 1932, 53:301.
CALDWELL, G. T., and ROBERTS, J. D. *J.A.M.A.*, 1938, 110:1641.
GRIFFEY, E. W. *Am. J. Ophthal.*, 1939, 22:1389.
MANDLIK, G. S. *Ind. Med. Gaz.*, 1937, 72:143.
MELLO, M. T. *Estudos sobre o Rhinosporidium Seeber*, Thesis, Escola Nac. Veterinaria, Rio, 1946.
MINCHIN, E. A., and FANTHAM, H. B. *Quart. J. Micr. Sci.*, 1905, 49:521.
NORONHA, A. J. *J. Trop. Med. & Hyg.*, 1933, 36:115.
O'KINEALY, F. *Proc. Laryngol. Soc.*, London, 1903, 10:109; *Jour. Laryng. Rhin. & Otol.*, 1903. 18:375.
PASTERNACK, J. G., and ALEXANDER, C. S. *Arch. Otolaryn.*, 1938, 27:746.
RUCHMAN, J. *Arch. Otolaryn.*, 1939, 30:239.
SEEBER, G. R. *Un nuevo esporozoario parásito del hombre*, Thesis, Univ. Nac., Buenos Aires, 1900.
——— 1912, en Allen, F. R. W. K., and Dave, M. L., *Ind. Med. Gaz.*, 1936, 71:376.
WERNICKE, R. 1903, en Allen, F. R. W. K., and Dave, M. L., *Ind. Med. Gaz.*, 1936, 71:376.

CAPITULO LXVIII

LAS DERMATOMICOSIS

Los dermatófitos son parásitos del hombre y de los animales que viven en regiones superficiales, queratinizadas del cuerpo, como la piel, el pelo y las uñas. No producen infecciones generalizadas y rara vez, si acaso, invaden el tejido subcutáneo.

Tales infecciones son conocidas por el vulgo como "pie de atleta" o "tiñas" y si bien no producen la muerte son repugnantes, con frecuencia producen incapacidad

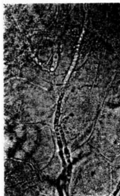


Fig. 221.



Fig. 222.

Fig. 221. Hifa ramificada vista en una preparación de piel con hidróxido potásico. (× 275.)

Fig. 222. Vaina de esporas de Microsporum alrededor de un pelo. (× 350.)

y plantean un serio problema tanto al médico general como a las autoridades de Sanidad Pública. En años recientes, *Microsporum audouini* ha causado epidemias extensas de tiña entre los escolares en ciertas regiones de Estados Unidos (Steves y Lynch, 1947; Lee, 1948).

Los dermatófitos fueron los primeros organismos patógenos descubiertos. *Achorion schoenleini* fué descubierto por Schoenlein en 1839; *Microsporum audouini*,

por Gruby, en 1843; *Trichophyton tonsurans*, por Malmsten, en 1845; *Epidermophyton inguinale*, por Sabouraud, en 1907; y *Endodermophyton concentricum*, por Castellani, en 1910. Fueron calificándose cada vez mayor número de especies por reacciones de cultivo poco importantes y su número llegó hasta 45 por el tiempo en que Sabouraud publicó su clásico tratado en 1910. Este proceso de crear especies continuó completándose hasta 1930, cuando se habían descrito más de 100 especies de *Trichophyton*. Por este tiempo se empezaron a eliminar especies superfluas (Langeron y Milochevitch, 1930; Ota y Kawatsuré, 1933; Emmons, 1934, y Conant, 1941). Se han suprimido los géneros *Achorion* y *Endodermophyton* y sus especies han sido incluídas en el género *Trichophyton*. Este contiene ahora solamente 10 a 12



Fig. 223.



Fig. 224.

Fig. 223. Hifas de Trichophyton por aplastamiento de pelo infectado en endotrix. (× 305.)

Fig. 224. Tricófito del pelo de tipo favus con numerosas hifas y tarsos. (× 305.)

especies, *Microsporum* contiene solamente tres especies y *Epidermophyton* sólo posee una (Conant y col., 1944).

Morfología. Los dermatófitos sólo presentan estructuras rudimentarias en sus localizaciones parásitas del pelo, la piel y las uñas. En las preparaciones con potasa. de la piel y las uñas, el hongo aparece en fragmentos micelianos (fig. 221) o como artrosporas dispuestas dentro del pelo o fuera de él (figs. 222, 223, 224). Para identificar el hongo resulta necesario cultivar el organismo en medios artificiales con el fin de poder conservar el tipo y disposición de las esporas.

Características de cultivo. Los dermatófitos crecen sobre diversos medios simples, pero generalmente se cultivan en agar glucosado de Sabouraud a la temperatura

de la habitación. Para la clasificación genérica y específica es necesario considerar tanto el aspecto de las colonias como la morfología microscópica. Las investigaciones sobre requerimientos nutritivos de algunos dermatófitos hechas por Robbins y colaboradores (1942) y Hazen (1947) señalan medios diferenciales adecuados sobre los cuales la formación de la colonia y la producción de esporas son más constantes.


FIG. 225. EPIDERMOPHYTON FLOCCOSUM.
Colonia en agar glucosado de Sabouraud a la temperatura de la habitación durante 12 días.

A continuación damos una breve descripción de los géneros y especies importantes como aparecen en los cultivos.

I. Género *Epidermophyton*. Sólo contiene una especie que invade la *piel* y las *uñas*, pero *no* el *pelo*. El género se caracteriza por numerosas *macroconidias* ovales o en forma de clava o maza, producidas en racimos o directamente de los lados de las hifas. No se producen *microconidias*.

1. *E. floccosum* (Harz) Langeron y Milochevitch, 1930.

En agar glucosado de Sabouraud, la colonia es pulverulenta, amarillo verdosa y produce rápidamente un micelio aéreo, algodonoso, blanco, que acaba cubriendo la superficie (fig. 225). A los lados de las hifas, o en racimos, se producen numerosas macroconidias en forma de maza, con dos a seis células de 7-12 × 20-40 μ de tamaño (fig. 226). Hay numerosas clamidosporas por todo el cultivo.


FIG. 226. EPIDERMOPHYTON FLOCCOSUM.
Macroconidias típicas a los lados de hifa (× 736).

II. Género *Microsporum*. Contiene tres especies que invaden el pelo y la piel, pero no las uñas. El género se caracteriza por numerosas *macroconidias* fusiformes producidas solamente en los extremos de las hifas, y por la presencia de algunas *microconidias* en forma de clava producidas a los lados de las hifas.

1. *M. audouini* Gruby, 1843.

En agar glucosado de Sabouraud, la colonia es de crecimiento lento, enmarañada y aterciopelada; más tarde forma surcos radiales y produce pigmentación anaranjada en el agua (fig. 227). Las macroconidias son *escasas* y, cuando se encuentran, suelen ser inmaduras y aparecen expansiones de los extremos de las hifas que no han logrado un desarrollo completo. A veces se pueden encontrar formas raras (figura 228). Las microconidias pueden aparecer en los cultivos primarios, pero son más numerosas en los pases subsiguientes. Las hifas pectiniformes y en raqueta pueden ser numerosas. Esta especie se considera *antropofílica*

por cuanto infecta solamente a los seres humanos. Causa epidemias de *tiña de la cabeza* en los niños.

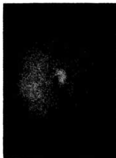


FIG. 227. MICROSPORUM AUDOUINI.

Colonia en agar glucosado de Sabouraud a la temperatura de la habitación durante 12 días.

2. *M. canis* Bodin, 1902.

En agar glucosado de Sabouraud la colonia es de crecimiento rápido, con micelio aéreo blanco, poco denso, que llega a ser de color canela o moreno y produce una pigmentación anaranjada en el agar (fig. 229). Las macroconidias son *abundantes* y aparecen como esporas fusiformes, de pared gruesa, con 6-14 células y 8-15 × 40-150 μ de tamaño (fig. 230). Las microconidias llegan a ser numerosas en los subcultivos. Las hifas en raqueta y las clamidosporas son numerosas. Esta especie se considera *zoófila* por cuanto primariamente es un parásito animal que causa infecciones esporádicas en los seres humanos. Cuando se aisla del hombre se llama generalmente *M. lanosum,* pero si se cultiva a partir de un animal suele dársele el nombre de éste; de aquí designaciones como *M. canis, M. felineum* y *M. equinum.*

3. *M. gypseum* (Bodin) Guiart y Grigorakis, 1928.

En agar glucosado de Sabouraud la colonia es de crecimiento rápido, pulverulenta y de color pardo canela, con pigmentación anaranjada en el agar (fig. 231). Las macroconidias son abundantes y aparecen como esporas de pared delgada, elipsoides, de 4-6 células y 8-12 × 30-50 μ de tamaño (fig. 232). Las microconidias llegan a ser numerosas en los pases subsiguientes. Producen hifas en raqueta y clamidosporas. Esta especie fué aislada primero por Bodin de un caso típico de *favus.* Las cepas que se han aislado de pacientes con lesiones favosas han sido llamadas *M. fulvum.*

III. Género *Trichophyton.*

Este género contiene diversas especies que invaden el *pelo,* la *piel* y las *uñas.* Es más difícil de caracterizar que los arriba descritos, ya que las esporas faltan en algunas formas y es necesario recurrir a un agrupamiento artificial de las especies por las características de la colonia más bien que por las microscópicas. Cuando se producen *macroconidias* son en número escaso, alargadas, de pared delgada, con esporas en forma de maza. Las microconidias, numerosas, subesféricas, piriformes o en maza, se desarrollan de los lados de las hifas o en racimos de uva (en *grappe).*

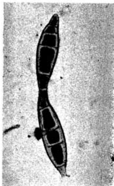


FIG. 228. MICROSPORUM AUDOUINI.

Tipo poco común de macroconidia (× 736).

1. *Trichophyton mentagrophytes* (Robin) Blanchard, 1896. Hongo de la mentagra.

En agar glucosado de Sabouraud las colonias pueden ser pulverulentas y de color canela o ante (tipo *gypseum)* o las hifas aéreas pueden ser compactas, blancas y algodonosas (tipo *interdigitale)* (figs. 233, 234). Es típico de esta especie el desarrollo de numerosas microconidias subesféricas, en racimo de uvas (fig. 235) o a los lados de las hifas (figura 236) y en las asas de éstas (fig. 237). Cuando se producen macroconidias, son alargadas, en forma de maza, con esporas de pared delgada y 4-6 × 10-50 μ de tamaño (fig. 238). Esta especie se encuentra en infecciones de ectotrix del pelo y en infecciones de la barba, piel y uñas.



FIG. 229. MICROSPORUM CANIS.

Colonia en agar glucosado de Sabouraud a la temperatura de la habitación durante siete días.

2. *T. rubrum* (Castellani) Sabouraud, 1911.

En agar glucosado de Sabouraud la colonia al principio es blanca, pero pronto produce una pigmentación rojiza o púrpura, tanto en el micelio aéreo como en el agar (fig. 239). Las diferentes cepas pueden variar mucho en la cantidad de pigmento producido y pueden conservar el aspecto blanco algodonoso con el pigmento limitado al fondo de la colonia en el agar. En algunas ocasiones se suelen producir macroconidias; las macroconidias son numerosas. Esta especie, que también es denominada *T. purpureum*, causa lesiones rebeldes de la piel y de las uñas. Las lesiones cutáneas son pruriginosas.



FIG. 230. MICROSPORUM CANIS.

Macroconidia fusiforme característica (× 736).

3. *T. tonsurans* Malmsten, 1845.

En agar glucosado de Sabouraud la colonia aterciopelada, de desarrollo lento, se hace apelotonada, plegada y de color crema o amarillento (fig. 240). Algunas cepas tienen un cráter central. Las macroconidias son raras o faltan; las microconidias consisten en esporas alargadas en forma de maza adheridas a los lados de las hifas. A causa de las grandes variaciones en las características macroscópicas de la colonia de las diferentes cepas hay muchos sinónimos para indicar esta especie. Se encuentra en infecciones de endotrix del cabello; es de difícil tratamiento.

4. *T. schoenleini* (Lebert) Langeron y Milochevitch, 1930.

En agar glucosado de Sabouraud la colonia de crecimiento lento llega a ser lisa, de aspecto céreo y con pliegues (fig. 241). En los pases subsiguientes se puede producir un micelio aéreo corto. Excepto en medios especiales, faltan las esporas o son escasas; cuando se encuentran son típicas del género *Trichophyton*. Microscópicamente, el hongo se compone de hifas abultadas con células cortas, clamidosporas numerosas y tarsos "fávicos", llamadas así porque aparecen como pinceles en los extremos de las

hifas, en el agar. Sin embargo, el nombre genérico *Achorion* ha sido desechado porque el hongo pertenece claramente al género *Trichophyton*, cuyas especies originan gran variedad de lesiones. Este hongo se aísla de las lesiones típicas del *favus*.

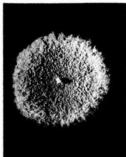


FIG. 231. MICROSPORUM GYPSEUM.

Colonia en agar glucosado de Sabouraud a la temperatura de la habitación durante siete días.

5. *T. violaceum* Sabouraud, 1902.

En agar glucosado de Sabouraud la colonia, de crecimiento lento, es apelotonada, lisa y cérea, y desarrolla pigmentación violeta profunda (fig. 242). En pases subsiguientes puede producirse un crecimiento aéreo blanco. Al microscopio faltan las formas esporuladas y solamente se ven hifas abultadas y clamidosporas. Este hongo se encuentra en las infecciones en endotrix del cabello y causa lesiones difíciles de curar.

6. *T. concentricum* Blanchard, 1896.

En agar glucosado de Sabouraud la colonia, de crecimiento lento, es apelotonada y lisa y puede llegar a ser de color crema a pardusco (fig. 243). Solamente se ven clamidosporas, hifas abultadas y tarsos "fávicos". Morfológicamente y por cultivo es muy similar a *T. schoenleini*. En las regiones tropicales produce unas lesiones muy superficiales, que suele conocérselas como *tiña imbricata* o *Tokelau*.

Resistencia. Los dermatófitos mueren en una hora a 60° C. Algunos materiales clínicos, como cabellos o piel infectados, que llevan en el laboratorio un año o más, pueden producir desarrollo si se siembran en medios adecuados. Varias sulfonamidas tienen acción fungostática *in vitro* sobre muchos de los dermatófitos (Wolf, en Nickerson, 1947), pero la penicilina no es eficaz (Foster y Woodruff, 1943; Keeney, Ajello y Lankford, 1944). Los estudios de varias cepas por Foster y Woodruff (1943), Reilly, Schatz y Waksman (1945) demostraron que la estreptomicina era inactiva, pero la estreptotricina mostraba cierta actividad. Otros antibióticos han mostrado mayor eficacia: la *gliotoxina* inhibe *Epidermophyton* (Johnson y col., 1943) y *T. gypseum* (Herrick, 1945; Reilly y colaboradores, 1945); la *clavacina* inhibe *T. gypseum* (Herrick, 1945). *T. purpureum* y *M. audouini* (Tolmach y Loewenthal, 1946); la *tirotricina* inhibe *M. gypseum*, *T. gypseum* y *T. schoenleini* (Stokes y col., 1942). Las secreciones de las glándulas sebáceas del cuero cabelludo del adulto contienen ácidos grasos saturados cuya acción fungostática es ejercida de manera singular contra la especie *Microsporum audouini* (Rothman y colaboradores, 1947).



FIG. 232. MICROSPORUM GYPSEUM.

Macroconidias típicas de pared delgada (× 736).

Metabolitos. Los dermatófitos no producen *endotoxinas ni exotoxinas*. Se ha comprobado que los extractos salinos de los cultivos secos y pulverizados (DeLamater y Benham, 1938), los filtrados de un cultivo de dos o tres meses triturados en el propio medio líquido (Sulzberger, 1932), y otros preparados producen cutirreacciones positivas en individuos sensibilizados. A estos productos se les ha denominado *tricofitina*. Recientes estudios han demostrado que los dermatófitos pueden también producir una substancia del tipo de la penicilina (Peck y Hewitt, 1945).

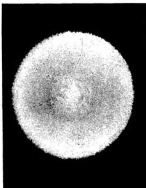


FIG. 233. TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES.

Colonia en agar glucosado de Sabouraud (tipo gypseum) a la temperatura de la habitación durante diez días.

Estructura antigénica. Los dermatófitos contienen antígenos específicos de grupo que se pueden demostrar por la técnica de Schultz-Dale en cobayos (Jadassohn y col., 1937) o por la técnica de Prausnitz-Küstner en seres humanos (Marcussen, 1937; Sulzberger, 1932). En respuesta a la inyección de dermatófitos a los animales por vía intravenosa o intraperitoneal se ha producido un anticuerpo circulante. La infección cutánea da lugar a la aparición de un anticuerpo celular, que puede demostrarse por la reacción a la inyección intracutánea de tricofitina. Tales reacciones llegan a ser positivas en 24-48 horas y pueden durar siete días. Los animales inyectados, y subsiguientemente sensibilizados con uno de los dermatófitos, suelen reaccionar a las inyecciones de productos de otros dermatófitos, indicando la presencia de antígenos de grupo. Una cutirreacción positiva en seres humanos significa infección pasada o presente y no se puede utilizar como medio diagnóstico. Greenbaum (1924) no pudo demostrar anticuerpos fijadores del complemento.

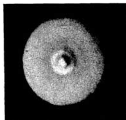


FIG. 234. TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES.

Colonia en agar glucosado de Sabouraud (tipo interdigital) a la temperatura de la habitación durante ocho días.

Infección espontánea en animales. Se han observado dermatofitosis espontáneas en gatos, perros, caballos, terneras, vacas, ovejas, ardillas, monos y ratas. Muchas de estas cepas animales son también patógenas para el hombre.

Infección experimental en animales de laboratorio. Se pueden establecer infecciones cutáneas experimentales en cobayos y conejos, así como en el gato y perro, naturalmente susceptibles. Sin embargo, *M. audouini* parece ser un parásito primitivo del hombre, ya que las infecciones en los animales no ocurren espontáneamente ni después de inoculaciones experimentales. Aunque los cobayos inyectados experimentalmente con dermatófitos

tienen en ocasiones hemocultivos positivos, nunca presentan lesiones de sus órganos internos. Si la piel de un cobayo se traumatiza y se inyectan esporas por vía intravenosa no aparecen lesiones de los órganos internos sino que se producen infecciones cutáneas en los sitios traumatizados.

Tipos clínicos de infección en el hombre. El tipo más común de dermatofitosis en el hombre es el que aparece en los pies, particularmente en las regiones interdigitales. Este tipo de infección se conoce popularmente como "pie de atleta" y suele estar causado por especies de *Trichophyton* o por *E. floccosum*. Hay producción de vesículas pequeñas pruriginosas entre los dedos de los pies y según se van rompiendo por traumatismo desprenden un líquido seroso flúido que causa macera-

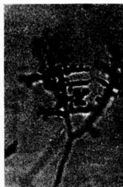


Fig. 235.



Fig. 236.

Fig. 235. Trichophyton mentagrophytes.

Conidióforos de los cuales se desarrollan racimos de microconidias (en grupos) (× 375). (Según Conant y col., *Manual of Clinical Mycology*, W. B. Saunders Co., Filadelfia, 1944.)

Fig. 236. Trichophyton mentagrophytes.

Microconidias a los lados de la hifa (× 375). (Según Conant y col., *Manual of Clinical Mycology*, W. B. Saunders Co., Filadelfia, 1944.)

ción y descamación de las capas superficiales de la piel, con aparición de grietas y fisuras. Aun en ausencia de infección bacteriana secundaria las lesiones persisten como infecciones indolentes durante meses o años, con exacerbaciones agudas ocasionales. La infección secundaria por bacterias suele causar una reacción inflamatoria aguda, con linfangitis y linfadenitis. Muchos pacientes infectados con especies de *Trichophyton* llegan a hacerse alérgicos al hongo en alto grado, lo cual no solamente aumenta la intensidad de la reacción local sino que con frecuencia da lugar a la aparición de lesiones vesiculares en otras partes del cuerpo imposibles de distinguir de las infecciones primarias. Tales lesiones, particularmente comunes en las palmas de las manos, no contienen hongos y se denominan *dermatofítides*.

A las infecciones de los pies pueden seguir las de las uñas, conocidas como *tiña de las uñas*. Por lo general sólo se afectan algunas uñas, que se hacen opacas, pierden lustre, se engruesan y tórnanse poco flexibles. Las uñas de las manos pueden también infectarse por contacto con las lesiones de los pies.

Una enfermedad de la piel lampiña del cuerpo, conocida como *tinea glabra*, ocurre con no poca frecuencia en los niños, como resultado del contacto con animales infectados o bien por autoinoculación con los pelos del cuero cabelludo infectado.

Los adultos se infectan por el manejo de animales o niños infectados o por autoinoculación de lesiones de manos y pies. Aunque puede aparecer gran variedad de



FIG. 237.



FIG. 238.

FIG. 237. TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES.

Hifa enrollada (× 375). (Según Conant y col., *Manual of Clinical Mycology*, W. B. Saunders Co., Filadelfia, 1944.)

FIG. 238. TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES.

Macroconidia en maza típica (× 736).

lesiones en la piel lampiña, la infección típica empieza como un pequeño grano rojo que se extiende periféricamente con centro escamoso y borde activo, eritematoso vesículopustular.

La tiña del cuero cabelludo, conocida como *tinea capitis*, ocurre en la infancia y suele curar espontáneamente en la pubertad. Sin embargo, algunos de los dermatófitos como *T. schoenleini*, *T. violaceum* y *T. tonsurans*, producen lesiones que persisten en la edad adulta. Las infecciones con *M. (lanosum) canis* se adquieren por contacto con gatos y perros infectados; suelen ser esporádicas. Por el contrario, las infecciones con *M. audouini*, que se adquieren por contacto con otros niños infectados, pueden adoptar forma epidémica.

En las infecciones por *Microsporum* el cabello se quiebra a corta distancia de su implantación, dejando regiones grisáceas cubiertas con muñones de cabellos rodeados por acúmulos de esporas. *M. canis* o *M. gypseum* pueden causar también reacción inflamatoria, originando una masa tumoral pastosa o *kerion*, que remeda una piodermitis. La especie ectotrix de *Trichophyton*, *T. (gypseum) mentagrophytes*, puede producir también reacciones inflamatorias agudas que dan lugar a la formación de *kerion*. Las especies de *Trichophyton* que invaden la vaina de los cabellos (endotrix) causan lesiones escamosas diseminadas pequeñas, con adelgazamiento del pelo en el punto donde se quiebra, cerca de la superficie del cuero cabelludo, dejando folículos de centro negro. Este tipo se llama a veces *tiña negra moteada*. Otra especie endotrix, *T. schoenleini*, causa una infección típica del cuero cabelludo conocida como *favus*, que se caracteriza por estructuras en forma de taza y que suelen conocerse como *escútulas* o escudillas fávicas formadas por los folículos de los pelos infectados.

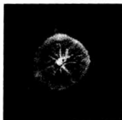


FIG. 239. TRICHOPHYTON RUBRUM.

Colonia en agar glucosado de Sabouraud a la temperatura de la habitación durante 12 días.

Las infecciones micósicas del hombre conocidas como *tiña de la barba*, mentagra o sicosis de la barba, pueden estar causadas por diversas especies del género *Trichophyton* y son difíciles de diferenciar de las infecciones causadas por estafilococos y otras bacterias piógenas si no es por el examen microscópico del pelo y de la piel.

Transmisión. Los dermatófitos causan infección en el hombre y en animales; este grupo contiene los únicos hongos patógenos conocidos que se sabe se transmiten de hombre a hombre. Los pelos infectados con *M. audouini* causan epidemia de tiña de la cabeza en los niños, por contacto directo, por el uso de tijeras contaminadas en las barberías y por contacto de asientos contaminados en locales públicos (Schwartz y col., 1946). La *tiña de los pies* o "pie de atleta" se piensa que es transmitida de hombre a hombre por el uso común de duchas en casinos, escuelas y colegios. Ocurren ocasionalmente epidemias cuando condiciones extraordinarias favorecen la diseminación de un tipo particular de organismo, como una debida a *E. floccosum*, que afectó a toda la tripulación de un barco (Mercer y Farber, 1935). Las infecciones se pueden transmitir desde gatos, perros, vacas y otros animales a las personas que se ponen en contacto con animales infectados. Las infecciones suelen ser esporádicas y se puede determinar su origen animal sin gran dificultad.

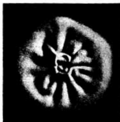


FIG. 240. TRICHOPHYTON TONSURANS.

Colonia en agar glucosado de Sabouraud a la temperatura de la habitación durante 35 días.

Productos biológicos. El material para las cutirreacciones o tricofitina, se puede obtener en el laboratorio o de las casas que venden productos biológicos. Este

material se puede emplear para la desensibilización, como coadyuvante de otras formas de terapéutica.

Tratamiento. Durante la guerra se llevaron a cabo amplios estudios para determinar la eficacia de diversos compuestos en el tratamiento de la tiña de los pies o "pie de atleta". Keeney y colaboradores (1944-45) ensayaron pomadas de *propionato, undecilenato* y *caprilato sódico* y comprobaron que estos preparados eran eficaces. Muskatblit (1947) hizo la valoración clínica de la pomada *desenex* (ácido undecilénico 5%, undecilenato de cinc 20% en excipiente cremoso) y el polvo *desenex* (ácido undecilénico 2% y undecilenato de cinc 20%, en talco) en diversas infecciones cutáneas causadas por hongos y encontró que tales preparados no eran más eficaces que los antiguos a base de ácido salicílico, pero resultaban útiles por no ser irritantes, aun en presencia de lesiones inflamatorias. Por esta razón se han empleado extensamente, en especial en el tratamiento de colectividades, ya que se han observado trastornos graves como resultado de tratamiento intenso con substancias irritantes.



Fig. 241. Trichophyton schoenleini.

Colonia en agar glucosado de Sabouraud a la temperatura de la habitación durante 28 días. La colonia es de crecimiento lento, de superficie lisa, de aspecto céreo y con pliegues.

La *tiña de la cabeza* se ha estudiado también extensamente para dar con el mejor método de tratamiento. Se han ensayado *salicilanilida*, el *undecilenato de cobre* y diversas pomadas y ha habido un acuerdo general en que, aunque tales pomadas sirven de ayuda, debe intentarse también arrancar los pelos infectados. Las infecciones que causan respuesta inflamatoria (Scully y col., 1948) pueden curar espontáneamente o ser tratadas con mayor facilidad después de la depilación. Las infecciones causadas por cepas animales, como *M. canis*, responden más rápidamente al tratamiento que las infecciones causadas por *M. audouini*, especialmente difíciles de erradicar. El pelo debe ser cortado y la cabeza enjabonada diariamente, todo ello seguido de aplicación de salicilanilida o pomada de undecilenato de cobre. Se debe hacer un intento, 3 a 4 veces por semana, para depilar la parte enferma después del enjabonado. Se deben hacer exámenes semanales con luz de Wood para comprobar la eficacia del tratamiento y descubrir si hay nuevas zonas de infección. Durante el período de tratamiento, que suele ser de tres a cuatro meses, debe llevarse un gorro de punto de algodón ajustado para evitar la contaminación del sombrero y la diseminación de la infección. El gorro debe ser hervido, lavado y llevado en todo momento.



Fig. 242. Trichophyton violaceum.

Colonia en agar glucosado de Sabouraud a la temperatura de la habitación durante 27 días.

Casos aislados de infección por *M. audouini* deben tratarse como se indicó antes de intentar la depilación con rayos X. Sin embargo, está comprobado que tales infecciones son difíciles de curar y responden mejor a la depilación con rayos X.

Las infecciones de la piel lampiña suelen responder a la pomada de ácido salicílico y azufre, amoniato de mercurio o tintura de yodo; algunos dermatófitos, por ejemplo, *T. rubrum*, causan infecciones difíciles de tratar y que sólo se pueden erradicar después de tratamiento prolongado.

Las *tiñas de las uñas* son difíciles de tratar y requieren meses de atención cuidadosa y constante a los detalles del tratamiento. Todas las partes infectadas deben extirparse tan cuidadosamente como sea posible y la uña remanente limada hasta quedar delgada como papel. Los lavados diarios con permanganato potásico (1:4000) deben ir seguidos de la aplicación de crisarobina (20%) en cloroformo, yodo al 1 por ciento en alcohol o pomada de ácido salicílico y azufre.

Prevención. La profilaxis individual es el mejor método para prevenir epidemias de la infección por dermatófitos. En un estudio reciente, Sulzberger y Kanof (1947) han publicado resultados excelentes tanto en el tratamiento como en la prevención de la infección por el uso diario de polvos para los pies (ácido undecilénico y undecilenato de cinc en talco, o ácido bórico al 1 por ciento en talco). Tales polvos no solamente mantienen secos los pies sino que también contienen agentes fungostáticos. La proporción de infecciones se puede reducir con medidas encaminadas a evitar la maceración de los tejidos y la acumulación de materiales muertos en los cuales anidarán los hongos.



FIG. 243. TRICHOPHYTON CONCENTRICUM.

Colonia en agar glucosado de Sabouraud a la temperatura de la habitación durante 27 días.

Las epidemias de tiña de la cabeza en los niños se pueden prevenir determinando rápidamente la extensión de la infección e instituyendo medidas terapéuticas adecuadas. Todos los niños de la familia se deben examinar con lámpara de Wood, que descubre los cabellos infectados por fluorescencia. El examen de los escolares con lámpara de Wood es un método excelente para descubrir los individuos infectados, permitiendo que sean puestos precozmente en tratamiento. Schwartz y colaboradores (1946) han señalado cómo se ha logrado dominar una epidemia de tiña de la cabeza y han esquematizado la técnica a seguir.

PIEDRA

Piedra es un término aplicado a dos tipos de infecciones micóticas del pelo. La piedra negra, causada por *Piedraia hortai*, se caracteriza por nódulos negros duros que se adhieren al pelo. La piedra blanca, causada por *Trichosporon beigelii*, se distingue por nódulos blancos y ligeramente coloreados que se desprenden fácilmente del pelo.

Vuillemin (1902), en Francia, aisló un hongo de algunos nódulos ligeramente coloreados que aparecieron en el pelo de un bigote. Este autor denominó al hongo *Trichosporon beigelii* por Beigel (1865), quien en Alemania ya había descrito tales nódulos en el pelo de pelucas. Behrend (1890), en Alemania, describió *T. ovoides*,

que había aislado de cabellos, y lo comparó con el material que se le había enviado desde Colombia, América del Sur. Desde estas primeras publicaciones se han descrito varias especies de *Trichosporon* como causa de la "piedra blanca" encontrada en los pelos de la cabeza, bigote y barba de personas en Europa Central, Lejano Oriente y América del Sur. McKinnon y Schouten (1942) estudiaron los hongos aislados y los encontraron idénticos a *T. beigelii*.

Horta (1911), en el Brasil, fué el primero en descubrir el hongo causante de los nódulos negros duros de los cabellos; Fonseca y Leão (1928) lo llamaron *Piedraia hortai*. Lo mismo que para la "piedra blanca" se han descrito varias especies de hongos como causa de la "piedra negra" encontrada en el pelo de personas, en América del Sur, Java y Cochinchina, pero, según McKinnon y Schouten (1942), todos son idénticos a *Piedraia hortai*.



FIG. 244. PIEDRAIA HORTAI.

Nódulo negro duro en la caña del pelo (× 147).

Morfología. *Piedraia hortai* aparece en el pelo como una discreta masa miceliana nodular, negra, adherente y dura, compuesta de hifas amplias (4 a 12 μ) ramificadas por dicotomía, muy tabicadas (fig. 244). Esparcidas por toda la masa miceliana hay numerosas ascas ovales de 30 × 50 μ, que contienen ocho ascosporas curvadas o fusiformes, de 10 × 30 μ, provistas cada una con un apéndice terminal único a manera de cilio.



FIG. 245. TRICHOSPORON BEIGELII.

Nódulo blando blanco en la caña del pelo (× 147).

Trichosporon beigelii aparece en el pelo como masas micelianas transparentes de vainas alargadas, blandas, gelatinosas, fácilmente desprendibles, compuestas de células redondas ovales y rectangulares de 2 a 10 μ de diámetro (fig. 245). El hongo se reproduce por formación de artrosporas y por gemación; los elementos se mantienen juntos dentro de una substancia gelatinosa.

Características de cultivo. *Piedraia hortai* se desarrolla lentamente en agar glucosado de Sabouraud; forma una colonia arrugada, lampiña, negra o negraverdosa, adherente. *Trichosporon beigelii* produce, algo más rápidamente, en agar glucosado de Sabouraud, una colonia arrugada, blanda, de color crema y de tipo levadura.

Transmisión. Las infecciones por *Piedraia hortai* son comunes en el Brasil donde el hongo causa epidemias con mayor frecuencia entre los varones que entre las mujeres, probablemente porque las últimas cuidan más de sus cabellos. *Trichosporon beigelii*, que

causa infecciones esporádicas del pelo, es mucho menos contagioso; el hongo se encuentra con mayor frecuencia en los pelos del bigote y de la barba que en los cabellos.



Fig. 246. Malassezia furfur.
Racimos de células redondas y segmentos cortos de hifas (× 736).

Tratamiento. Los pelos infectados deben cortarse y afeitarse; después se tratará la región con aplicaciones de solución de bicloruro de mercurio (1:2 000) o pomada de mercurio amoniacal (al 3 por ciento).

TIÑA VERSICOLOR

La tiña versicolor es una infección de la piel causada por *Malassezia furfur*. En las preparaciones de escamas con solución de hidróxido potásico, y en las preparaciones teñidas, el hongo aparece en forma de racimos de células redondas en estado de gemación, de 3 a 8 μ de diámetro, entremezcladas con fragmentos cortos de hifas (fig. 246).

Las lesiones suelen aparecer en el tronco, pero también pueden hallarse en el cuello, cara y brazos. Aparecen como placas furfuráceas, irregulares, rojo parduscas, circunscritas, fluorescentes a la luz de Wood. No se preparan cultivos; con respecto al diagnóstico clínico se puede confirmar por el examen microscópico de las escamas furfuráceas.

BIBLIOGRAFIA

Dermatomicosis

Castellani, A. *J. Trop. Med. & Hyg.*, 1910, 13:370.
Conant, N. F. *J. Invest. Derm.*, 1941, 4:265.
———, Martin, D. S., Smith, D. T., Baker, R. D., and Callaway, J. L. *Manual of Clinical Mycology*, W. B. Saunders Co., Phila., 1944.
DeLamater, E. D., and Benham, R. W. *J. Invest. Derm.*, 1938, 1:469.
Emmons, C. W. *Arch. Derm. & Syph.*, 1934, 30:337.
Foster, J. W., and Woodruff, H. B. *Arch. Biochem.*, 1943, 3:241.
Greenbaum, S. S. *Arch. Derm. & Syph.*, 1924, 10:279.
Gruby, M. *Compt. rend. Acad. Sci.*, 1843, 17:301.
Hazen, E. L. *Mycologia*, 1947, 39:200.
Herrick, J. A. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1945, 59:41; *Ohio J. Sci.*, 1945, 45:45.
Jadassohn, W., Schaaf, F., and Wohler, G. *J. Immunol.*, 1937, 32:203.
Johnson, J. R., Bruce, W. F., and Dutcher, J. D. *J. Am. Chem. Soc.*, 1943, 65:2005.
Keeney, E. L., Ajello, L., Broyles, E. N., and Lankford, E. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1944, 75:417.
———, Ajello, L., and Lankford, E. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1944, 75:410.
———, Ajello, L., Lankford, E., and Mary, L. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1945, 77:422.
Langeron, M., and Milochevitch, S. *Ann. de parasit. hum. comp.*, 1930, 8:465.
Lee, R. K. C. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1948, 63:261.
Malmsten, P. H. Traducido por F. C. H. Creplin, *Arch. f. Anat. Physiol. u. Wiss. Med.*, 1848, p. 1.
Marcussen, P. V. *Arch. Derm. & Syph.*, 1937, 36:494.
Mercer, S. T., and Farber, G. J. *Arch. Derm. & Syph.*, 1935, 32:62.
Muskatblit, E. *Arch. Derm. & Syph.*, 1947, 56:256.
Ota, M., and Kawatsuré, S. *Ann. de parasit. hum. comp.*, 1933, 11:476.
Peck, S. M., and Hewitt, W. L. *U. S. Pub. Health Rep.*, 1945, 60:148.
Reilly, H. C., Schatz, A., and Waksman, S. A. *J. Bacteriol.*, 1945, 49:585.

Robbins, W. J., and Ma, R. *Am. J. Bot.*, 1945, 32:509.
———, MacKinnon, J. E., and Ma, R. *Bull. Torrey Bot. Club*, 1942, 69:509.
Rothman, S., Smiljanic, A., Shapiro, A. L., and Weitkamp, A. W. *J. Invest. Derm.*, 1947, 8:81.
Sabouraud, R. *Arch. Med. Exp. Anat. Path.*, 1907, 19:565.
Schoenlein, Prof. *Arch. f. Anat., Physiol. u. Wiss. Med.*, 1839, p. 82.
Schwartz, L., Peck, S. M., Botvinick, I., Leibovitz, A., and Frasier, E. S. *Public Health Bull.* No. 294, 1946.
Scully, J. P., Livingood, C. S., and Pillsbury, D. M. *J. Invest. Derm.*, 1948, 10:111.
Steves, R. J., and Lynch, F. W. *J.A.M.A.*, 1947, 133:306.
Stokes, J. L., Peck, R. L., and Woodward, C. R., Jr. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1942, 51:126.
Sulzberger, M. B. *J. Immunol.*, 1932, 23:73.
——— and Kanof, A. *Arch. Derm. & Syph.*, 1947, 55:391.
Tolmach, J. A., and Loewenthal, K. *J. Invest. Derm.*, 1946, 7:207.
Wolf, F. T. *Biology of Pathogenic Fungi*, W. J. Nickerson, editor, Chronica Botanica Co., Waltham, Mass., 1947, p. 91.

Piedra

Behrend, G. *Berlin Klin. Wchnschr.*, 1890, 27:464.
Beigel, 1865. En Fonseca, O., *Rev. Med. Cir., Brasil*, 1930, 38:251.
Fonseca, O., and Leão, A. E. *Suppl. Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 1928, 4:124.
Horta, P. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 1911, 3:87.
McKinnon, J. E., and Schouten, G. B. *Arch. Soc. Biol. Montevideo*, 1942, 10:227.
Vuillemin, P. *Arch. de Parasitol.*, 1902, 5:38.

CAPITULO LXIX

MICOSIS DIVERSAS

ASPERGILOSIS

La aspergilosis, causada por *Aspergillus fumigatus*, es una infección granulomatosa inflamatoria aguda o crónica de los senos paranasales, bronquios, pulmones y, en ocasiones, de otras partes del cuerpo.

Como en todas partes se hallan especies de *Aspergillus*, resulta difícil asignar poder patógeno a toda aquella que se aísle de cualquier orificio del cuerpo o de los esputos de pacientes con infecciones pulmonares no diagnosticadas. Se reconoce, sin embargo, a *A. fumigatus* como patógeno para las aves, tanto domésticas como silvestres, así como para los animales y el hombre. Virchow (1856) publicó los hallazgos de autopsia en aspergilosis pulmonar humana, y Renon (1897) estudió la enfermedad en el hombre y en animales. En Francia, se ha reconocido a la aspergilosis como enfermedad ocupacional que ocurre entre los que manejan y comen pichones y los manipuladores de pieles y pelos. Schneider (1930), Sayers y Meriwether (1932), Wahl (1936) y Van Ordstrand (1940) han publicado casos de infección pulmonar.

Se han aislado especies de *Aspergillus* de infecciones subcutáneas (maduromicosis) por Nicolle y Pinoy (1906), Fonseca (1929) y otros. Wright (1927), Kelley (1934) y Adams (1933) han publicado casos de infección de los senos cranales y la órbita.

En la publicación de Wolf (1947) se encuentra bibliografía completa de las especies de *Aspergillus* registradas en otomicosis.

Morfología. *Aspergillus fumigatus* aparece en los esputos de pacientes con aspergilosis pulmonar como fragmentos rotos de hifas; en la maduromicosis suelen encontrarse gránulos negros compuestos de hifas gruesas, septadas, ramificadas; en los exudados del conducto auditivo pueden verse fragmentos de hifas y pequeñas conidias redondas o los conidióforos característicos. Cuando se ven conidias o fragmentos de hifas deben hacerse cultivos para la identificación.

Características de cultivo. *Aspergillus fumigatus* se desarrolla rápidamente en agar glucosado de Sabouraud, para formar una colonia blanca algodonosa que llega a ser aterciopelada, y conforme se producen las esporas va adquiriendo aspecto pulverulento y color verde obscuro. Microscópicamente, se ven los conidióforos típicos de *Aspergillus*. La vesícula está cubierta en su mitad superior de estructuras que producen cadenas de conidias de color verde obscuro.

Resistencia. Fourneau y colaboradores (1936) descubrieron que la sulfanilamida era la parte activa del prontosil basándose en la actividad fungostática de esta substancia en estudios *in vitro* sobre desarrollo de *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus jeanselmei* y *Lichtheimia italica*. Es, por lo tanto, interesante observar que la primera demostración *in vitro* de la acción de la droga, a partir de la cual se han obtenido tantos derivados importantes, estuvo basada en experimentos de fungostasis más bien que de bacteriostasis.

Aspergillus niger es inhibido por la sulfanilamida para 24 horas a concentración del 1:10 000, para ocho a diez días al 1:1 000 y por dos meses al 1:100 (Forneau y col., 1936). Senturia y Wolf (1945) demostraron que 20 a 30 mg de sulfanilamida espolvoreados sobre la superficie del cultivo inhibían *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. glaucus* y *A. sydowi*, mientras que el sulfatiazol, la sulfadiacina, sulfaguanidina y sulfameracina eran ineficaces

Metabolitos. Henrici (1939) ha demostrado una *endotoxina* en la savia celular de *A. fumigatus*. Bodin y Gauthier (1906) encontraron una substancia tóxica en los filtrados de cultivo de 15 días, que mataba los conejos pero era innocua para palomas y cobayos. Ceni y Besta (1902) demostraron que se podía obtener una substancia tóxica de los extractos alcohólico-etéreos de las esporas.

Estructura antigénica. La substancia obtenida por Henrici (1939) de la savia celular de *A. fumigatus* se encontró que era tóxica para gallinas, ratones, conejos y cobayos cuando se administraba por vía subcutánea, intraperitoneal o intravenosa, pero no era tóxica cuando se daba a estos animales por la boca. La toxina también hemolizaba los glóbulos rojos de carnero; las inyecciones a conejos producían precipitinas y antihemolisinas, que se demostraban en los sueros de estos animales.

Enfermedad espontánea en animales. Las aves y mamíferos se infectan por esporas de *A. fumigatus* contenidas en pajas y forrajes enmohecidos empleados para alimentos o nidos. Las epidemias en las incubadoras pueden causar graves pérdidas económicas.

Infección experimental en animales de laboratorio. Gallinas, palomas, conejos y cobayos pueden infectarse por inoculación intravenosa o intraperitoneal de esporas o introduciéndolas en las vías respiratorias.

Tipos clínicos de infección en el hombre. La otomicosis es probablemente secundaria a infecciones bacterianas del oído; el hongo existiría en forma saprófita en los tejidos macerados o en el cerumen. Puede afectarse la audición al obstruirse el conducto por una masa de micelios o por detritus epiteliales. Los síntomas consisten en picor y edema; a veces el dolor puede ser insoportable.

La afección de los senos craneales simula infección por bacterias piógenas.

La infección del tejido subcutáneo del pie produce el cuadro típico de la maduromicosis.

Las infecciones bronquiales originan bronquitis crónicas y pueden ir acompañadas de asma.

La aspergilosis pulmonar puede ocurrir como infección secundaria en casos de carcinoma del pulmón, bronquiectasias o tuberculosis. La infección primaria de los pulmones simula la tuberculosis primaria, con tos y esputo mucoso o mucopurulento que con frecuencia contiene sangre. Las hemoptisis no son raras. A los rayos X, las lesiones pueden ser nodulares o difusas y semejan focos bronconeumónicos o abscesos pulmonares. Con frecuencia se forman cavidades. En los individuos sensibilizados no son raras las recidivas.

Transmisión. Se hallan especies de *Aspergillus* en todas partes: en el suelo, agua, aire, substancias alimenticias, productos animales y en casi todos los orificios del cuerpo. Los diversos miembros del género son contaminantes obligados de productos como esputos, pus, heces, cerumen y exudados de lesiones abiertas. Se pueden cultivar a partir del contenido gástrico; en autopsias se ven y se cultivan con frecuencia a partir de lesiones necróticas de los pulmones producidas por neoplasia o tuberculosis.

La humedad favorece el desarrollo de los hongos y predispone a la infección por *A. fumigatus*.

Tratamiento. El yoduro sódico por vía intravenosa y el yoduro potásico por la boca pueden resultar eficaces. Debe administrarse sulfanilamida a título de ensayo terapéutico.

MUCORMICOSIS

Absidia (Mucor) corymbifera ha sido considerado causa de infecciones pulmonares en el hombre, simulando bronquitis o tuberculosis pulmonar. Las esporas se encuentran en el esputo y los cultivos se obtienen rápidamente en agar glucosado de Sabouraud. Pattauf (1886) describió el primer caso de infección pulmonar con metástasis en varios órganos y formación de abscesos. Ernst (1918) publicó un caso en Estados Unidos y revisó la literatura. Lang y Grubauer (1923) publicaron un estudio completo de los datos clínicos y anatomopatológicos de tales casos.

Se encuentran especies de *Mucor* en todas partes y, como *Aspergillus* y *Penicillium*, son contaminantes comunes que se encuentran con frecuencia en cultivos de productos clínicos. En esputos se puede encontrar una sola especie con tal regularidad que deba considerarse verdaderamente como causa de la enfermedad. Sin embargo, la mucormicosis pulmonar es una enfermedad rara y diversas especies de *Mucor* son contaminantes comunes.

PENICILIOSIS

Es difícil de comprobar el papel patógeno de las especies de *Penicillium* que se pueden aislar de un enfermo. Como los *Aspergilli*, los *Penicillia* se hallan en todas partes y son contaminantes constantes de productos clínicos.

Wolf (1947) enumera las especies de *Penicillium* que se han aislado de casos de otomicosis. Aimé, Creuzé y Kresser (1933) publicaron un caso de infección pulmonar con datos clínicos y radiológicos característicos de absceso pulmonar. La prueba definitiva, que indique la verdadera relación de una especie de *Penicillium* con un proceso patológico, está aún por descubrir.

BIBLIOGRAFIA

Aspergilosis

ADAMS, N. F. *Arch. Surg.*, 1933, 26:999.
BODIN, E., and GAUTHIER, L. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1906, 20,209.
CENI, C., and BESTA, C. *Centralbl. f. allgem. Path. u. Anat.*, 1902, 13:930.
FONSECA, O. DA. *Rev. Brasil Med.*, 1929, 43:504.
FOURNEAU, E., TREFOUEL, J., TREFOUEL, MME. J., NITTI, F., and BOVET, D. *Compt. rend. Soc. Biol.*, 1936, 122:652.
HENRICI, A. T. *J. Immunol.*, 1939, 36:319.
KELLEY, A. B. *J. Laryngol. & Otol.*, 1934, 49:821.
NICOLLE, C., and PINOY, E. *Arch. de Parasitol.*, 1906, 10:437.
RENON, L. *Étude sur l'Aspergillose chez les animaux et chez l'homme*, Masson et Cie., Paris. 1897.
SAYERS, R. R., and MERIWETHER, F. V. *Am. J. Roent.*, 1932, 27:337.
SCHNEIDER, L. V. *Am. Rev. Tuberc.*, 1930, 22:267.
SENTURIA, B. H., and WOLF, F. T. *Arch. Otolaryn.*, 1945, 41:56.
VAN ORDSTRAND, H. S. *Cleveland Clin. Quart.*, 1940, 7:66.
VIRCHOW. *Arch. f. path., anat. u. physiol.*, 1856, 9:557.
WAHL, E. F. *Tr. Am. Therap. Soc.*, 1936, 36:35.
WOLF, F. T. *Arch. Otolaryn.*, 1947, 46:361.
WRIGHT, R. E. *Brit. J. Ophth.*, 1927, 11:545.

Mucormicosis

Ernst, H. C. *J. Med. Res.*, 1918, 34:143.
Lang, F. J., and Grubauer, F. *Arch. Path., Anat. u. Physiol. (Virchow)*, 1923, 245:480.
Paltauf, A. *Arch. Path., Anat. u. Physiol. (Virchow)*, 1885, 102:543.

Peniciliosis

Aimé, P., Creuzé, P., and Kresser, H. *Pressé méd.*, 1933, 41:764.
Wolf, F. T. *Arch. Otolaryn.*, 1947, 46:361.

PARTE IX

TECNICA DE BACTERIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y SEROLOGIA

CAPITULO LXX

ESTUDIO MICROSCOPICO Y TINCION DE LAS BACTERIAS

Las bacterias pueden ser estudiadas vivas y sin teñir, o después de la aplicación de colorantes. Tales estudios requieren el uso de portaobjetos y cubreobjetos; es importante emplear solamente material nuevo. Portas y cubres deben limpiarse con alcohol de 95° y secarse con un paño limpio.

En estado vivo. Las bacterias vivas se pueden estudiar en la preparación de "gota pendiente", empleando el llamado "portaobjetos excavado" y un cubreobjetos. Con los medios líquidos, se pone una gota del cultivo en el centro del cubreobjetos. Si se toman de un medio sólido, las bacterias deben emulsionarse directamente sobre el cubreobjetos en una gota de solución salina o de caldo. Se embadurnan los bordes del cubre con vaselina o aceite mineral, se coloca invertido sobre la excavación y se examina al microscopio.

Iluminación en campo obscuro. Este método es de especial importancia para examen de espiroquetas, que son difíciles de teñir o pierden sus características morfológicas en el proceso de fijación y tinción. El método se describe en el libro de Gage (1932).

En preparaciones fijadas. Para teñirlas, las bacterias deben extenderse sobre portaobjetos. Si están en un medio líquido se pasa una asa sobre la lámina y la gota se deja secar al aire. Como en los medios líquidos las bacterias se encuentran en número relativamente corto, suele aconsejarse llevar varias asas a una pequeña zona del portaobjetos, marcando los límites de ella con un lápiz marcador de vidrio por la cara opuesta. Si se toman de un medio sólido, se coloca una pequeña gota de agua estéril en el portaobjetos, se toca la colonia con el asa o aguja de siembra y se llevan las bacterias a la gota. Se emulsionan y se extienden en película muy fina que se deja secar al aire.

Después de seca, se fija la extensión, pasando la preparación, con la película hacia arriba, tres veces por una llama de Bunsen. Aunque la fijación hecha de esta manera es buena para el trabajo corriente, no es la mejor ya que la aplicación del calor no se puede precisar con exactitud. Se pueden emplear otros métodos, como la inmersión en alcohol metílico, formol, solución acuosa saturada de bicloruro de mercurio, líquido de Zenker y ácido acético. Si se usan fijadores químicos deben eliminarse con agua antes de teñir.

Tinción. Los colorantes usados para tinción de las bacterias son, en su mayor parte, colorantes básicos de anilina, tales como azul de metileno, violeta de genciana

y fucsina. Para tinción simple suelen emplearse en solución acuosa al 5 por ciento, preparada generalmente a partir de soluciones alcohólicas saturadas filtradas; la tinción se logra cubriendo la película bacteriana fijada con solución colorante y dejándola actuar medio a uno y medio minutos, según la eficiencia del colorante empleado. El azul de metileno es el más débil de los tres colorantes mencionados; el violeta de genciana, el más fuerte.

El exceso de colorante se quita lavando con agua.

La preparación se seca con un poco de papel fino o colocándola entre dos hojas de secante.

Las preparaciones teñidas se examinan directamente; no es necesario el uso de cubreobjetos.

Solubilidad de los colorantes. La solubilidad a 26° C., de los colorantes usados en las diversas tinciones que vamos a describir, se indica en la tabla siguiente.

Número índice de color	Nombre del colorante	Solubilidad por ciento * en:	
		Agua	Alcohol de 95°
381	Pardo de Bismarck Y	1,36	1,08
382	Pardo de Bismarck R	1,10	0,98
20	Crisoidina Y	0,86	2,21
21	Crisoidina R	0,23	0,99
370	Rojo Congo	....	0,19
681	Cristal violeta (cloruro)	1,68	13,87
768	Eosina Y (sal Na)	44,20	2,18
678	Fucsina básica, nueva	1,13	3,20
	Fucsina ácida	....	....
	Violeta de genciana. Véase violeta de metilo y cristal violeta	....	....
133	Verde Janus	5,18	1,12
657	Verde de malaquita (oxalato)	7,60	7,52
680	Violeta de metilo	2,93	15,21
922	Azul de metileno (cloruro)	3,55	1,48
825	Rojo neutro (cloruro)	5,64	2,45
7	Acido pícrico	1,18	8,96
739	Pironina G	8,96	0,60
676	Rosanilina	0,39	8,16
	Pararrosanilina	0,26	5,93
779	Rosa de bengala (sal Na)	36,25	7,53
841	Safranina	5,45	3,41
248	Sudán III	0	0,15
920	Tionina	0,25	0,25
925	Azul de toluidina O	3,82	0,57

* Estas cifras son en gramos por cien centímetros cúbicos.

METODOS DE TINCION

Tinción de Gram. Se han ideado muchas fórmulas y procedimientos para la tinción de Gram. En nuestro laboratorio, la modificación de Burke (1921) ha dado muy buen resultado; otros autores prefieren las modificaciones de Hucker (1922) o Kopeloff y Beerman (1922).

Modificación de Burke. 1. Cubrir la extensión fijada con solución acuosa al 1 por ciento de violeta de genciana o cristal violeta; inmediatamente añadir tres a cinco gotas de solución de bicarbonato sódico y mezclar con el colorante. La solución de bicarbonato sódico es una solución

acuosa al 5 por ciento a la cual se ha añadido mertiolato (1-20 000) para impedir el desarrollo de bacterias contaminantes. Teñir durante un minuto.

2. Lavar rápidamente con agua y cubrir el frotis con solución de yodo (yodo 1 g, yoduro potásico 2 g, agua 200 c.c.) durante un minuto.
3. Lavar rápidamente con agua.
4. Decolorar haciendo gotear la mezcla acetona-éter (una parte de éter y tres partes de acetona) sobre el porta inclinado, para que el líquido fluya en corriente casi continua. El lavado debe continuar hasta que el líquido llegue a ser incoloro.
5. Escurrir la mezcla acetona-éter del porta y lavarlo bien con agua.
6. Contrastar con safranina (solución acuosa al 0,5 por ciento) durante diez segundos.
7. Lavar con agua; secar.

Tinciones para bacterias ácidorresistentes. Se usan principalmente para tinción de *Myco. tuberculosis.* Estas bacterias, por sus membranas celulares céreas, son difíciles de teñir si no se emplean los colorantes más enérgicos; pero una vez teñidas retienen el color aun después de una enérgica decoloración con ácido. Por esta razón se les conoce como bacterias ácidorresistentes. Algunas de las formas pueden no ser ácidorresistentes en todas circunstancias.

Método de Ziehl-Neelsen

Solución A:	
Fucsina básica (sol. alcohólica sat.)	10 c.c.
Solución acuosa de fenol al 5 por ciento	90 c.c.
Solución B:	
Acido clorhídrico conc.	3 c.c.
Alcohol de 95°	97 c.c.

1. Cubrir la preparación con fucsina fenicada y calentar hasta que emita vapores; mantenerla así durante cinco minutos. Añadir colorante repetidas veces para evitar que se deseque sobre la lámina.
2. Lavar con agua.
3. Decolorar con alcohol clorhídrico hasta que las partes menos espesas queden incoloras.
4. Lavar con agua.
5. Teñir con azul de metileno, 10 a 30 segundos.
6. Lavar con agua y secar.

Método de Pappenheim. 1. Fijar el frotis por el calor de la manera corriente.
2. Teñir con solución de fucsina fenicada durante dos minutos.
3. Verter el colorante sin lavar con agua.
4. Cubrir lentamente con la mezcla siguiente:

Coralina (ácido rosólico)	1 g
Alcohol absoluto	100 c.c.
Añadir azul de metileno hasta saturación	
Glicerina	20 c.c.

5. Escurrir la mezcla con cuidado; repetir los pasos 4 y 5 por tres o cuatro veces.
6. Lavar con agua.

Método de Spengler. 1. Cubrir la preparación de fucsina fenicada y calentar suavemente hasta emisión de vapores; mantener así durante tres a cinco minutos.
2. Verter la fucsina fenicada y aplicar la mezcla alcohol-ácido pícrico (2 g de ácido pícrico en 40 c.c. de agua destilada; dejar reposar durante 24 horas, filtrar y añadir un volumen igual de alcohol de 95°) durante dos o tres segundos.

3. Aplicar tres o cuatro gotas de ácido nítrico al 15 por ciento durante cinco segundos.
4. Verter el ácido nítrico y aplicar otra vez la mezcla alcohol-ácido pícrico hasta que la preparación se ponga amarillenta.
5. Lavar en agua corriente.

Esta es una tinción excelente para las personas daltónicas: los organismos ácidorresistentes se tiñen en negro sobre un fondo amarillo.

Gabbet (1887) y Kinyoun (1915) idearon otros métodos de tinción para *Mycobacteria.*

Coloraciones para Corynebacteria. Se han ideado métodos de coloración para *C. diphtheriae* con el propósito de demostrar los gránulos polares y metacromáticos. Para el trabajo corriente los más comúnmente usados son:

Azul de metileno alcalino de Löffler (fórmula corregida)

Solución A:		
Azul de metileno (conteniendo el 90% de colorantes)	0,3	g
Alcohol etílico	30	c.c.
Solución B:		
KOH diluído (0,01 por ciento en peso)	100	c.c.

Mezclar las soluciones A y B.
1. Teñir la preparación fijada durante un minuto.
2. Lavar con agua y secar.

Azul de toluidina. Este colorante ha resultado útil para empleo general, y uno de los mejores para *C. diphtheriae.*

Azul de toluidina	0,25	g
Acido acético glacial	2	c.c.
Alcohol absoluto	5	c.c.
Agua destilada	100	c.c.

1. Teñir el frotis fijado durante un minuto.
2. Lavar con agua y secar.

Se han creado diversas coloraciones diferenciales con el propósito de demostrar los gránulos en *C. diphtheriae.* Han dado excelentes resultados los siguientes:

Método de Ljubinsky

Solución A:		
Violeta de metilo B	2,5	g
Acido acético glacial	50	c.c.
Agua destilada	950	c.c.
Solución B:		
Crisoidina	5,6	g
Agua destilada	1 000	c.c.

No filtrar.
1. Teñir el frotis con la solución A durante un minuto.
2. Lavar con agua.
3. Teñir con la solución B durante 30 segundos.
4. Lavar con agua y secar al aire o con papel de filtro.

Los gránulos deben quedar azul obscuros o negros; el resto del cuerpo bacteriano, rojizo o amarillento. El tiempo de aplicación de las dos soluciones varía según la edad de las soluciones y sólo se puede determinar por ensayo.

Método de Neisser

Solución A:

Azul de metileno (no especificado el contenido de colorante)	1	g
Alcohol de 95°	20	c.c.
Acido acético glacial	50	c.c.
Agua destilada	950	c.c.

Disolver el colorante en el alcohol antes de añadir los otros materiales.

Solución B:

Cristal violeta (no especificado el contenido de colorante).	1	g
Alcohol de 95°	10	c.c.
Agua destilada	300	c.c.

Solución C:

Crisoidina	1 ó 2	g
Agua destilada	300	c.c.

1. Teñir el frotis fijado con las soluciones A y B (dos partes de la solución A y una parte de la solución B) durante diez segundos.
2. Lavar con la solución C durante diez segundos.
3. Lavar brevemente con agua (no es obligado); secar con papel filtro.

Tinción para hongos

Azul Cotton Lactofenol

Cristales de fenol	20	g
Acido láctico siruposo	20	c.c.
Glicerina	40	c.c.
Agua	20	c.c.

Disolver por calentamiento suave y añadir:

Azul Cotton	0,05	g

1. Colocar una gota pequeña de colorante sobre el porta.
2. Revolver el material de cultivo en la gota; aplicar un cubreobjetos.
3. Calentar suavemente a la llama para expulsar las burbujas de aire.

Métodos de coloración para los Cuerpos de Negri. Se extirpa una pequeña porción de hipocampo del cerebro y se hace una impresión por contacto en un porta-objetos con la superficie seccionada del tejido nervioso.

Método de Seller

Fucsina básica (solución saturada en alcohol metílico absoluto)	2 a 4	c.c.
Azul de metileno (solución saturada en alcohol metílico absoluto)	15	c.c.
Alcohol metílico absoluto (libre de acetona)	25	c.c.

Mezclar el azul de metileno y el alcohol, después añadir 2 c.c. de la solución de fucsina básica. El colorante mezclado mejora con el tiempo y se conserva indefinidamente si se proteje de la evaporación.

1. Teñir el frotis durante cinco segundos.
2. Lavar con agua y secar al aire.

Otras coloraciones han sido descritas por Williams y Lowden (1906) y Schliefstein (1937).

Métodos de coloración para rickettsias. Para obtener los mejores resultados deben prepararse frotis muy finos sobre portaobjetos escrupulosamente limpios.

Método de Castañeda

Solución A:

Fosfato potásico, PO_4H_2K (solución acuosa al 1%)	100 c.c.
Fosfato sódico, PO_4Na_2H. $12H_2O$ (solución acuosa al 25%).	100 c.c.

Mezclar y añadir 1 c.c. de formol como conservador.

Solución B:

Alcohol metílico	100 c.c.
Azul de metileno (National Aniline & Chemical Co., New York)	1 g

Mezclar 20 c.c. de la solución A con 0,15 c.c. de la solución B y añadir 1 c.c. de formol.

Coloración de contraste:

Safranina "O" (National Aniline & Chemical Co., New York) (solución acuosa al 0,2 por ciento)	25 c.c.
Acido acético (al 0,1 por ciento)	75 c.c.

1. Teñir el frotis durante tres minutos.
2. Verter el colorante sin lavar.
3. Contrastar con safranina durante uno a cuatro segundos (nunca más de cinco segundos).
4. Lavar con agua corriente y secar con papel de filtro.

Método de Machiavello. Se prepara una solución de fucsina básica al 0,25 por ciento en una solución tampón de fosfatos regulada a pH 7,4.

1. Teñir el frotis fijado con la solución de fucsina (filtrándola sobre la preparación con papel de filtro ordinario y un embudo) durante cuatro minutos.
2. Escurrir y lavar rápidamente con solución de ácido cítrico al 0,5 por ciento.
3. Lavar inmediatamente con agua corriente.
4. Teñir con una solución acuosa de azul de metileno al 1 por ciento, durante 20 segundos.

Las rickettsias, intra y extracelulares, se tiñen en rojo; los elementos celulares, en azul. Este método es eficaz para los frotis de cultivos, pero no para los cortes de tejidos de animales infectados de tifus.

Métodos de tinción para espiroquetas.

Método de Fontana-Tribondeau. Este método se basa en el depósito de sales de plata sobre el microorganismo y la reducción del compuesto con formol.

Soluciones:

Solución de Ruge:

Acido acético glacial	1 c.c.
Formol al 40%	2 c.c.
Agua destilada	100 c.c.

Mordiente de ácido tánico:

Acido tánico	5 g
Agua destilada	100 c.c.

Solución madre de nitrato de plata:

Nitrato de plata	4 g
Agua destilada	200 c.c.

Solución de Fontana:

A 25 c.c. de la solución madre de nitrato de plata añadir la solución diluída de amoníaco, gota a gota, hasta que se forma un precipitado moreno que se redisuelve. Se sigue agregando más nitrato

de plata hasta que la solución permanece ligeramente turbia después de agitar. Una solución transparente no resulta útil.

1. Cubrir el frotis seco (no fijado) con solución de Ruge: dejar en contacto un minuto.
2. Lavar bien con agua.
3. Fijar con alcohol de 95° dejándolo caer gota a gota sobre el porta y después encender el alcohol.
4. Añadir el mordiente de ácido tánico. Calentar suavemente hasta que se desprendan vapores; entonces dejar actuar el colorante durante 30 segundos.
5. Lavar bien con agua.
6. Cubrir la lámina con el colorante de Fontana. Calentar suavemente hasta que se desprendan vapores; dejar actuar el colorante durante 30 segundos o más.

Las espiroquetas aparecen en moreno obscuro o en negro sobre fondo moreno brillante.

Noguchi (1921) y Tunnicliff (1922) han descrito otros métodos para teñir las espiroquetas.

Métodos de coloración de bacteria en los tejidos. Para detalles acerca de la coloración de bacterias en cortes de tejidos deben consultarse textos de técnica histopatológica, como los de Mallory (1938) y Lillie (1948).

Métodos de coloración de cápsulas. Las cápsulas se pueden observar en preparaciones húmedas por adición de una gota de tinta china (preferibles las tintas de dibujo resistentes al agua, de Higgins y Weber) a una asa de suspensión de los microorganismos.

Hay muchos métodos para teñir las cápsulas (Welch, 1892; Hiss, 1905; Buerger, 1904; Wadsworth, 1906; Huntoon, 1917). Preferimos el descrito por Hiss.

Método de Hiss. Se hacen las preparaciones en cubreobjetos extendiendo los organismos en una gota de suero animal.

1. Cubrir el frotis fijado con solución acuosa de violeta de genciana al 5 por ciento (5 c.c. de solución alcohólica saturada de violeta de genciana en 95 c.c. de agua destilada) y calentar hasta producir vapor; actuar durante un minuto.
2. Lavar con solución de sulfato de cobre al 20 por ciento.
3. Absorber con papel (no lavar) y secar completamente.

Métodos de tinción para flagelos. Una buena coloración necesita preparaciones en cubreobjetos particularmente limpios, hechas preferentemente de cultivos jóvenes en agar, emulsionados en solución salina estéril. Para teñir los flagelos es necesario hacerlos aumentar de volumen. Este engrosamiento suele lograrse preparando con cuidado una suspensión espesa de los microorganismos en agua destilada e incubándola durante una o dos horas a 37,5° C.

Se han propuesto muchos métodos para colorar flagelos (Löffler, 1889; Shunk, 1920; Van Ermengen, 1894; Zettnow, 1899). Hemos obtenido muy buenos resultados con el siguiente:

Método de Zettnow

Mordiente:

Tanino	10 g
Agua destilada c.b.p.	200 c.c.
Calentar suavemente a 50° C. y añadir tártaro emético (solución acuosa al 5%)	30 c.c.

Solución argéntica:

Solución madre de sulfato de plata (1 g, agua destilada hasta 250 c.c.)	50 c.c.
Etilamina (solución al 35%).	

Añadir la etilamina gota a gota hasta que el precipitado pardoamarillento que se forma al principio se disuelva completamente y el líquido quede transparente. Si se ha añadido demasiada etilamina se puede corregir el error añadiendo más solución madre de sulfato de plata.

1. Colocar una asa de la suspensión de organismos en un cubreobjetos limpio; extenderla oscilando suavemente el cubreobjetos hacia atrás y hacia delante.

2. Dejar secar al aire y colocar el cubreobjetos seco sobre un soporte anular.

3. Añadir la solución mordiente y calentar suavemente hasta emisión de vapores. *No* hervir. Reponer la solución para evitar la desecación. Calentar hasta emitir vapores durante cinco a ocho minutos.

4. Levantar el cubreobjetos cuidadosamente y colocarlo sobre una superficie metálica fría; observar atentamente. Tan pronto como el mordiente empieza a enturbiarse alrededor de los bordes, coger el cubreobjetos y moverlo suavemente en uno y otro sentido hasta que el mordiente se enturbia en el centro.

5. Sumergirlo inmediatamente en un vaso lleno de agua y lavar con cuidado. *No* intentar arrastrar el mordiente con agua.

6. Colocar el cubreobjetos apoyado sobre un borde y escurrir el agua sobrante.

7. Cubrir con la solución argéntica y calentar suavemente hasta que la solución empiece a ponerse negra.

8. Quitar la preparación, lavar en agua y montar.

Métodos de tinción de esporas.

Método de Dorner. 1. Preparar una suspensión gruesa de microorganismos emulsionando un cultivo en agar inclinado en dos o tres gotas de agua destilada.

2. Añadir una cantidad igual de fucsina fenicada recién filtrada.

3. Dejar permanecer la muestra de 10 a 12 minutos en un baño de María hirviente.

4. Mezclar sobre una lámina una asa de la preparación teñida con una asa de solución acuosa saturada de nigrosina.

5. Preparar una extensión tan fina como sea posible y secar rápidamente.

Las esporas se tiñen en rojo y resaltan sobre el fondo gris obscuro de nigrosina.

Otro método que se usa con frecuencia es el ideado por Moeller (1891).

BIBLIOGRAFIA

BUERGER, L. *Med. News*, 1904, 85:1117.
BURKE, V. *J.A.M.A.*, 1921, 77:1020.
CASTAÑEDA, M. R., and ZIA, S. *J. Exper. M.*, 1933, 58:55.
DORNER, W. C. *Stain Technology*, 1930, 5:25.
GABBET, H. S. *Lancet*, 1887, 1:757.
GAGE, S. H. *The Microscope*, Ithaca, N. Y., 1932, 15th ed.
HISS, P. H. *J. Exper. M.*, 1905, 6:317.
HUCKER, G. J. *Abs. Bacteriol.*, 1922, 6:2.
HUNTOON, F. M. *J. Bacteriol.*, 1917, 2:241.
KINYOUN, J. J. *Am. J. Pub. Health*, 1915, 5:867.
KOPELOFF, N., and BEERMAN, P. *J. Infect. Dis.*, 1922, 31:480.
LILLIE, R. D. *Histopathologic Technic*, The Blakiston Co., Philadelphia, 1948.
LINDER, D. H. *Science*, 1929, 70:430.
LÖFFLER, F. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt., 1889, 6; 1890, 7:625.
MALLORY, F. B. *Pathological Technique*, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1938.
MOELLER. *Centralbl. f. Bakteriol.*, I Abt., 1891, 10.
NEELSEN, F. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1883, 9.
NOGUCHI, H. *J.A.M.A.*, 1921, 77:2052.
PAPPENHEIM, A. *Berl. klin. Wchnschr.*, 1898.
SCHLEIFSTEIN, J. *Am. J. Pub. Health*, 1937, 27:1284.
SHUNK, I. V. *J. Bacteriol.*, 1920, 5:181.
SIMMONS, J. S., and GENTZKOW, C. J. *Laboratory Methods of the U. S. Army*, Lea & Febiger, Philadelphia, 1944.

SPENGLER, C. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1907, No. 9, p. 337.
TUNNICLIFF, R. *J.A.M.A.*, 1922, 78:191.
VAN ERMENGEN. *Centralbl. f. Bakt.*, I Abt., 1894, 15.
WADSWORTH, A. *J. Infect. Dis.*, 1906, 3:610.
WELCH, W. H. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1892, 3:81.
WILLIAMS, A. W., and LOWDEN, M. M. *J. Infect. Dis.*, 1906, 3:452.
ZETTNOW. *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr.*, 1899, 30:95.
ZIEHL, F. *Deutsche med. Wchnschr.*, 1882, 8:451.

CAPITULO LXXI

PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO

Técnica general. El cultivo de las bacterias en medio artificial requiere que éste no sólo contenga material nutritivo asimilable, sino que también reúna condiciones adecuadas de humedad, temperatura y presión osmótica. Tales condiciones se pueden llenar variando la composición de un medio nutritivo para cubrir los requerimientos necesarios de la bacteria particular que se desea cultivar. Nadie puede hacer buenos estudios bacteriológicos con medios de cultivo preparados sin cuidado; el tapado defectuoso, la suciedad del material de vidrio o un pH inadecuado pueden hacer fracasar el aislamiento de muchos de los patógenos más importantes.

Las técnicas empleadas para este fin han evolucionado gradualmente desde los métodos ideados originalmente por Pasteur, Koch, Cohn y otros.

Cristalería. Los medios usados para cultivo bacteriano están contenidos en diversos recipientes de material de vidrio, como tubos de ensayo, matraces de Erlenmeyer y placas de Petri; todo este material debe estar limpio y estéril antes de recibir el medio. La cristalería nueva debe sumergirse en solución al 1 por ciento de ácido clorhídrico o nítrico para arrastrar todo el álcali libre y después lavarse bien con agua caliente corriente para arrastrar el ácido.

La cristalería que ha de contener los medios se esteriliza primero en el autoclave y después se hierve en solución de carbonato sódico o de jabón al 5 por ciento durante 10 a 15 minutos. Resulta necesaria una lavadora mecánica si se trabaja en gran escala. Después de lavar completamente en agua caliente corriente, se coloca la cristalería en una estufa de aire caliente para facilitar el secado.

Después de secar matraces y tubos se colocan los tapones. La técnica del tapado es extremadamente importante para asegurar la esterilidad, ya que un tapón flojo puede permitir la contaminación y un tapón demasiado apretado suele aumentar de volumen cuando se quita de modo que es difícil volverlo a colocar después de sembrar el tubo.

En la mayor parte de los laboratorios se usa para los tapones algodón bruto o "algodón graso", pero se puede emplear el absorbente. Para tapar los tubos de ensayo se enrolla la punta de una pieza de algodón para formar un tapón del tamaño deseado. Para los matraces se arrollan grandes piezas de algodón y se envuelven en gasa. Antes de llenarlos con medio de cultivo, los tubos y matraces taponados deben ser esterilizados en un "esterilizador de aire caliente" a 170° C. durante una hora.

Ingredientes básicos de los medios de cultivo. Los requerimientos nutritivos generales de las bacterias han sido estudiados en el Capítulo III; los más específicos para aislamiento y desarrollo de cada microorganismo han sido tratados en las secciones correspondientes. Mucha investigación bacteriológica fundamental está relacionada con el metabolismo de las bacterias, empleando medios sintéticos a base de constituyentes orgánicos e inorgánicos conocidos. Sin embargo, para aislar y cultivar la mayor parte de los organismos patógenos encontrados en Bacteriología médica es suficiente usar un simple macerado de carne o medio a base de extracto

de carne enriquecido con substancias tales como sangre, líquido de ascitis, aminoácidos o carbohidratos. En ciertos casos, como por ejemplo, si interesa aislar organismos patógenos en los cultivos de heces, es necesario emplear medios muy complejos que contienen carbohidratos, indicadores, inhibidores, etc.

La mayor parte de los medios comúnmente usados se componen básicamente de los constituyentes solubles de la carne. El *macerado de carne* se obtiene poniendo 500 g de carne cruda, limpia de grasa, en 1 000 c.c. de agua destilada, dejándolo durante la noche en la nevera y después pasándolo a través de una tela. A este macerado se le añaden los demás constituyentes, como peptona, sal y tampones y después de ajustar el pH se obtiene un medio de cultivo adecuado para la mayor parte de las bacterias. Algunos de los constituyentes solubles de la carne se pueden obtener también empleando extractos de carne de vaca del comercio, que consisten en el líquido obtenido por cocción de la carne el cual es evaporado hasta obtener una pasta moreno obscura. El azúcar y la gelatina se destruyen durante la preparación.

Las *peptonas* son digeridos de proteínas, como caseína o diversos tejidos animales. La digestión se efectúa con tripsina o pepsina, según el tipo de proteína usada.

El *agar-agar* se obtiene de *algas* encontradas a lo largo de las costas del Pacífico y del norte de Carolina. El agar se extrae por ebullición en agua; después de obtenido un gel, es congelado. El material congelado se derrite y se coloca al sol para desecarlo y decolorarlo. Se tritura el material en partículas pequeñas para permitir pesadas exactas y facilitar la solución.

La *gelatina* es un hidrolizado acuoso de proteína preparado con materiales como huesos, fascias y tendones. La gelatina, que puede obtenerse en el comercio en forma de polvo, se incorpora a los medios en la cantidad deseada.

Muchas de las dificultades para preparar medios se pueden obviar empleando medios *deshidratados* que se pueden comprar en la casa Digestive Ferments Company (Difco), de Detroit, Michigan, o en The Baltimore Biological Laboratory (B.B.L.), de Baltimore, Maryland. Aunque el costo de tales medios preparados, naturalmente, es más alto que el de los hechos en el laboratorio, los primeros son de composición más uniforme y en realidad pueden resultar menos costosos para los laboratorios que no tienen gran volumen diario de trabajo bacteriológico.

La *sangre total* es esencial para algunos medios; se puede obtener sangre humana, impropia para transfusiones, de los bancos de sangre. La sangre animal se puede obtener de caballos, conejos o carneros. La técnica para sangrar a los animales se describe en el Capítulo LXXIII. Tal sangre, desfibrinada o citratada, se puede conservar en la nevera durante una o dos semanas, para añadirla al medio cuando se desee. El *suero* se obtiene recogiendo sangre en un tubo de centrífuga estéril y dejándolo coagular. Después que se ha formado el coágulo, éste debe separarse de las paredes del tubo con una varilla de vidrio estéril; el suero se recoge con una pipeta estéril después de la centrifugación.

El *líquido de ascitis,* obtenido de pacientes con derrame peritoneal, es una substancia de enriquecimiento importante que se añade a los medios. El líquido, que debe estar desprovisto de bilis y ser de color amarillo dorado, se esteriliza pasándolo por un filtro Seitz.

Carbohidratos químicamente puros se pueden obtener en la casa Digestive Ferments Company, de Detroit, Michigan.

Los colorantes, incorporados como *indicadores* en diversos medios de cultivo, se pueden comprar en The National Aniline and Chemical Company de Nueva York.

Titulación de los medios. La mayor parte de las bacterias patógenas son muy sensibles a los cambios en la acidez y en la alcalinidad; para lograr el aislamiento y cultivo se requiere que cada medio sea ajustado a valores óptimos de pH.

Como la mayor parte de los medios usados para aislar e identificar microorganismos patógenos tienen pH entre 7,4 y 7,8, el del medio se puede determinar con un solo indicador, el rojo de fenol. Se puede obtener de la casa La Motte Chemical Products Company, de Baltimore, Maryland,

con una serie de tipos coloreados que varían desde pH 6,8 a 8,4. El equipo incluye un tubo de agua destilada para titulación y un bloque comparador. Los tipos están garantizados por un año.

En la titulación y ajuste del pH de un medio es importante usar tubos de ensayo del mismo diámetro que los de los tipos coloreados. En cada uno de tres tubos se colocan 2 c.c. del medio que se va a ajustar; dos de ellos contienen 8 c.c. de agua destilada; el otro, 7,5 c.c. de agua destilada y 0,5 c.c. de rojo de fenol (al 0,02 por ciento). Los tubos se colocan en un comparador según el esquema adjunto (fig. 247). El tipo de color del pH deseado se coloca en la fila anterior a la izquierda; el de pH inmediatamente más alto a la derecha. Al tubo medio de la hilera posterior que contiene medio e indicador se le añade con una bureta hidróxido de sodio N/20. Los contenidos de los tubos se mezclan perfectamente antes de cada comparación. El número de c.c. de NaOH N/20 requeridos para alcanzar el pH deseado, multiplicado por 25, indica la cantidad de NaOH N/1 requerida para llevar un litro del medio al pH deseado. Después de añadir la cantidad calculada de álcali y mezclar perfectamente, debe comprobarse el pH final. Es aconsejable hacer la reacción dos unidades pH más alcalina que la reacción final que se desea, ya que la esterilización en el autoclave suele aumentar la acidez del medio. Para detalles concernientes al cálculo y determinación del pH consúltense los trabajos de Clark y Lubs (1917) y Clark (1927).

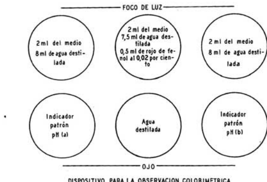


FIG. 247. DISPOSICIÓN DE LOS TUBOS EN EL BLOQUE COMPARADOR.

Métodos para aclarar los medios. Los medios deben ser lo más transparentes posibles ya que cualquier enturbiamiento puede simular desarrollo bacteriano.

Los medios que contienen agar o gelatina deben ser filtrados por algodón. Una pieza cuadrada de algodón absorbente se dobla en toda su anchura, dando dos capas de igual tamaño; éstas se colocan entonces una sobre la otra de modo que las fibras se crucen en ángulo recto. Después, el algodón se envuelve entre piezas de gasa quirúrgica. El filtro así preparado se adapta suavemente a un embudo grande, con el puño cerrado; los bordes se adhieren a los lados alisándolos contra el embudo bajo una pequeña corriente de agua caliente. El filtro debe calentarse antes de proceder a la filtración.

El medio al principio debe verterse a lo largo de una varilla de vidrio, para evitar que se escurra por los lados o rompa el filtro. Después que ha empezado la filtración el filtro debe mantenerse lo más lleno posible.

Muchos medios pueden aclararse perfectamente por filtración a través de papel grueso sin necesidad de coágulo.

Esterilización de los medios. Por el calor. Los medios más simples se pueden esterilizar en el autoclave a 15 libras de presión (121° C.) durante 15 a 30 minutos. Los medios que contienen substancias alterables por las altas temperaturas deben esterilizarse por el método *fraccionado*, p. ej., sometiéndolos durante 20 minutos a vapor fluente durante tres días consecutivos. Durante los intervalos entre las esterilizaciones, deben conservarse a la temperatura de la habitación para permitir que germinen las esporas que puedan haber sobrevivido. Los medios que contienen soluciones albuminosas, que deben ser esterilizadas sin coagulación, se someten a temperaturas que varían entre 60° C. y 70° C., por una hora durante cinco o seis días consecutivos, o se pasan a través de un filtro de Seitz. Los medios de suero coagulado pueden esterilizarse al autoclave.

Indicadores usados en los medios de cultivo. Los siguientes indicadores, usados para descubrir la producción de ácido en los cultivos en desarrollo, se añaden a los medios cuando se preparan.

Indicador de Andrade. A 100 c.c. de una solución acuosa de fucsina ácida se añaden 16 c.c. de NaOH normal; mezclar y esterilizar a 15 libras de presión (121° C.) durante 15 minutos. El medio resulta incoloro cuando está alcalino y tiene color rosa cuando es ácido.

Púrpura de bromocresol. A 100 c.c. de alcohol de 95° añadir 1,6 g de púrpura de bromocresol. Suelen añadirse de 5 a 10 c.c. de esta solución a 1 000 c.c. de medio.

Rojo de fenol. A 100 c.c. de agua destilada se añade 1 g de rojo de fenol. De esta solución madre se añaden 2 c.c. a 1 000 c.c. del medio. El medio resulta rojo cuando es alcalino y amarillo cuando ácido.

Composición y preparación de los medios de cultivo. Los medios nutritivos usados para cultivar bacterias son numerosos y variados. Levine y Schoenlein (1930) ordenaron y clasificaron las fórmulas de unos 2 500 medios diferentes. Esta útil recopilación, con muchas instrucciones particulares, un índice manejable y rica bibliografía, constituye una fuente de información indispensable.

A continuación se indican medios de cultivo usados en Bacteriología médica:

Agar-ascitis. Fundir, en un matraz, 100 c.c. de macerado de carne-agar glucosa del pH deseado y enfriar a 41° C. Con una pipeta estéril añadir 20 c.c. de líquido de ascitis y distribuir en tubos (para medios inclinados) o en placas; dejar endurecer.

Medio de Avery. A un tubo de caldo glucosado regulado a pH 7,8 añadir 0,1 c.c. de sangre estéril.

Medio base de Bacto-G C. Este es un medio deshidratado preparado por los laboratorios Difco, de Detroit, Michigan. Se compone de 15 g de peptona proteosa N° 3 (Difco); 1 g de almidón de maíz; 5 g de cloruro sódico; 4 g de fosfato dipotásico; 1 g de fosfato potásico monobásico y 10 g de agar por litro.

Este medio, enriquecido con Bacto-Hemoglobina o Bacto Suplemento A o B, se usa para cultivar *N. gonorrhoeae.*

Agar-extracto de carne. A un litro de caldo-extracto de carne añadir 20 g de agar. Hervir y agitar constantemente hasta que el agar se disuelva. Restaurar el volumen con agua destilada y filtrar por algodón absorbente. Poner las cantidades requeridas en los tubos (10 c.c. para medio inclinado; 15 c.c. para medios verticales) o en matraces y esterilizar en el autoclave a 15 libras de presión (121° C.) durante 15 minutos. Si se desean medios inclinados colocar los tubos en posición inclinada mientras el agar se solidifica.

Caldo-extracto de carne. A un litro de agua destilada añadir 5 g de extracto de carne, 10 g de Bacto peptona y 5 g de cloruro sódico.

Mezclar los ingredientes en un vaso y calentar agitando sobre llama directa hasta que la peptona y el extracto de carne se disuelvan por completo. Titular y ajustar el medio al pH deseado. Añadir la cantidad calculada de NaOH normal; hervir el caldo durante 30 minutos, filtrar y comprobar la reacción. Distribuir el medio en tubos o matraces y esterilizar en el autoclave a 15 libras de presión (121° C.) durante 15 minutos.

Si se desea caldo glucosado añadir 10 g de glucosa antes de titular el medio.

Agar macerado de carne. A un litro de caldo de carne añadir 20 g de agar. Hervir y agitar constantemente hasta que se disuelva. Restaurar el volumen con agua destilada y filtrar a través de algodón absorbente. Poner las cantidades requeridas en tubos o frascos y esterilizar en el autoclave a 15 libras de presión (121° C.) durante 15 minutos. Si se desean medios inclinados colocar los tubos en posición inclinada mientras se enfría el agar.

Si se desea agar glucosado, usar caldo glucosado en lugar de caldo simple.

Caldo de carne. Quitar toda la grasa de carne magra de vaca y picarla finamente. A cada 500 g de carne cruda añadir 1 000 c.c. de agua destilada y dejar macerar en la nevera durante 12 a 18 horas. Después de la refrigeración, espumar toda la grasa y hervir a fuego intenso durante media hora. Filtrar por papel y restaurar el volumen con agua destilada. A cada 1 000 c.c. de esta infusión añadir 20 g de Bacto peptona, 5 g de cloruro sódico y 2 g de fosfato sódico dibásico. Calentar hasta disolver la peptona. Titular y ajustar la reacción al pH deseado; después hervir durante media hora. Dejar enfriar hasta unos 30° C., filtrar por papel, distribuir en tubos o matraces y esterilizar al autoclave a 15 libras de presión (121° C.) durante 15 minutos.

Si se desea caldo glucosado, añadir 10 g de glucosa antes de titular el medio.

Gelatina-caldo de carne. A un litro de caldo de carne, hirviendo, añadir 150 g de gelatina. Agitar hasta que la gelatina esté casi completamente disuelta. Colocar en una estufa o en un esterilizador de Arnold y calentar hasta que se haya disuelto toda la gelatina, agitando frecuentemente. Añadir agua destilada para restaurar el volumen y ajustar la reacción al pH deseado. Mantener caliente la solución y filtrarla por algodón. Poner 8-10 c.c. en cada tubo y esterilizar en el autoclave a 15 libras de presión durante 15 minutos. Dejar endurecer la gelatina con los tubos en posición vertical.

Agar-sulfito de bismuto. (Wilson y Blair.) A 1 000 c.c. de agua destilada añadir 20 g de agar, 5 g de extracto de carne y 10 g de peptona. Disolver los ingredientes calentando en el autoclave durante 15 minutos. Si no se usa de una vez se puede conservar en la nevera como agar-base.

Disolver 6 g de escamas de citrato de amonio y bismuto en 50 c.c. de agua hirviendo; disolver 20 g de sulfito sódico anhidro en 100 c.c. de agua hirviendo; disolver 10 g de glucosa en 50 c.c. de agua hirviendo. Mezclar las dos primeras soluciones, hervir y agregar 10 g de fosfato sódico anhidro (PO_4HNa_2) durante la ebullición. Dejar enfriar la mezcla y añadir la solución de glucosa. Restaurar el volumen con agua destilada y guardar en matraz de pyrex bien tapado y en armario cerrado, a la temperatura de la habitación.

Disolver por medio del calor 1 g de citrato de hierro (citrato férrico) en 100 c.c. de agua y añadir 12,5 c.c. de solución al 1 por ciento de verde brillante. Guardar en matraz de pyrex bien tapado en armario cerrado a la temperatura de la habitación.

A 100 c.c. de agar-base fundido caliente añadir, mezclando bien, 20 c.c. de la mezcla de sulfito de bismuto y 4 c.c. de la solución de citrato de hierro con verde brillante (este medio se puede obtener en forma deshidratada de los laboratorios Difco, de Detroit, Michigan). Verter inmediatamente en placas de Petri (15 a 20 c.c. en cada una). Dejar la tapa de la placa de Petri inclinada hasta que el agar se haya extendido. Conservar las placas a la temperatura de la habitación durante una a dos horas y después guardarlas en la nevera hasta el momento del uso. Se aconseja utilizar estas placas dentro de los cuatro días que siguen a su preparación.

Agar-sangre. Fundir 100 c.c. de agar-macerado de carne del pH deseado en un matraz y dejar enfriar a 45° C. Añadir 5 c.c. de sangre desfibrinada o citratada; mezclar y verter en tubos para medios inclinados o en placas de Petri, según se desee. Poner a la estufa para comprobar la esterilidad.

Agar-sangre-cistina-glucosa para Past. tularensis. (Según Edward Francis, del Departamento de Sanidad Pública de EE.UU.) Disponer de agar-macerado de carne, con 1 por ciento de peptona, 1,5 por ciento de agar y 0,5 por ciento de cloruro sódico, ajustado a pH 7,3. Cuando se necesite, añadir a este agar de reserva 0,1 por ciento de cistina y 1 por ciento de glucosa; calentar en un

esterilizador de vapor de Arnold el tiempo suficiente para fundir el agar y esterilizar la cistina y la glucosa. Enfriar a 50° C. y añadir 5 a 8 por ciento de sangre desfibrinada.

Esterilizar por calentamiento el frasco de agar-cistina-glucosa-sangre en baño de María durante dos horas a 60° C., evitando una temperatura más alta que haría sedimentar la mezcla. El medio se distribuye entonces en tubos con precauciones asépticas. Estos se ponen en la estufa para comprobar la esterilidad.

Medio de Bordet-Gengou para H. pertussis. (Modificado por Lawson y Mueller.) Pasar por molino de carne 500 g de patatas peladas; añadirles 1 000 c.c. de agua destilada y 40 c.c. de glicerina. Mezclar bien en un matraz; colocarlo en el esterilizador de Arnold durante una hora. Hacer pasar este extracto a través de una tela y a cada 500 c.c. de líquido añadir 1 500 c.c. de solución de ClNa al 0,6 por ciento y 50 g de agar. Calentar a vapor fluente hasta disolver el agar; poner en tubos y esterilizar en el esterilizador de Arnold durante una hora 3 días consecutivos. Antes del uso, fundir el medio en baño de María, enfriar a 42°-45° C. y añadir 5 a 10 por ciento de sangre de caballo citratada o sangre desfibrinada de conejo; verter en placas de Petri estériles.

Agar verde brillante. A cada uno de dos matraces que contengan 100 c.c. de extracto de carne agar fundido y enfriado a unos 45° C., añadir 1 c.c. de indicador de Andrade, 5 c.c. de solución estéril al 20 por ciento de lactosa y 5 c.c. de solución estéril al 2 por ciento de glucosa. A uno de los matraces añadir 0,12 c.c. de solución acuosa al 0,1 por ciento de verde brillante; al otro, 0,3 c.c. de la solución de verde brillante. Mezclar perfectamente y verter en placas de Petri estériles, poniendo una capa gruesa de agar en cada una.

Cuando se siembran heces, usar una placa de cada concentración del colorante.

Medios de carbohidratos para pruebas de fermentación. A 1 000 c.c. de caldo-extracto de carne de pH 7,6 añadir 2 c.c. de solución acuosa al 1 por ciento de rojo de fenol. Poner 10 c.c. en sendos tubos que contienen ámpulas invertidas; esterilizar en el autoclave a 15 libras de presión (121° C.) durante 15 minutos. Después de la esterilización, añadir 0,5 c.c. de solución estéril al 20 por ciento del carbohidrato deseado. Las soluciones de carbohidratos deben esterilizarse pesándolas a través de un filtro de Seitz.

Agar-chocolate. Al agar-macerado de carne fundido de pH 7,4, añadir 5 a 10 por ciento, en volumen, de sangre desfibrinada; calentar gradualmente hasta unos 75° C., o sea, cuando la sangre empieza a coagular y a tener color moreno obscuro achocolatado.

Agar-urea de Christensen. A 1 000 c.c. de agua destilada añadir 1 g de peptona (Bacto), 5 g de cloruro sódico, 2 g de fosfato monopotásico, 0,012 g de rojo de fenol y 20 g de agar.

Calentar en el autoclave hasta que se disuelva el agar (bastan unos 20 minutos). Titular y ajustar el pH a 7,4. Filtrar por algodón y guardar en matraces (100 c.c. en cada uno).

Cuando se necesite, fundir un matraz de agar al baño de María, enfriar a 41° C. y añadir 0,1 c.c. de solución estéril de glucosa al 10 por ciento y 1 c.c. de solución estéril de urea al 20 por ciento. Verter en tubos de ensayo estériles y dejar solidificar en posición inclinada. Colocar los tubos poco inclinados para que dejen un fondo profundo lleno de medio.

Medio de carne cocida. Colocar unos trozos de carne picada cocida en el fondo de un tubo de ensayo, y caldo suficiente de pH 7,8, para que haya unos 3 c.c. de caldo recubriendo sobre la carne. Recubrir con 2 c.c. de vaselina y esterilizar a 15 libras de presión (121° C.) 15 minutos

Si el medio se va a utilizar para el cultivo de microorganismos aerobios no recubrir con vaselina.

Agar-harina de maíz. A 500 c.c. de agua destilada añadir 40 g de harina de maíz amarilla y mantener a 65° C. durante una hora. Filtrar por papel. Añadir 15 g de agar a 500 c.c. de agua y calentar hasta disolver el agar. Mezclar las soluciones de harina de maíz y agar; filtrar por algodón. La filtración es lenta, y el agar se enfriará y endurecerá a menos que el matraz se coloque en un baño o esterilizador de vapor. Poner en tubos y esterilizar a 15 libras de presión (121° C.) durante 15 minutos.

Agar-desoxicolato. A un litro de agua destilada añadir 10 g de peptona; hervir durante poco tiempo y filtrar por papel. Neutralizar, si es necesario, y añadir 17 g de agar y 2 c.c. de NaOH normal. Calentar a vapor fluente hasta disolver el agar; entonces añadir los siguientes ingredientes, en el orden expresado: 1 g de desoxicolato sódico, 5 g de cloruro sódico, 2 g de fosfato dipotásico, 10 g de lactosa y 2 g de citrato férrico amoniacal (escamas verdes). Mezclar, ajustar la reacción a pH 7,2-7,4 y añadir 3,3 c.c. de solución acuosa de rojo neutro.

Poner en tubos y esterilizar durante 15 minutos a vapor fluente (sin presión), o por mayor tiempo si se distribuye en matraces. El medio debe calentarse lo menos posible, sólo lo suficiente para matar las formas vegetativas de las células bacterianas. Guardar en la obscuridad porque el rojo de fenol se decolora por la luz.

El agar-desoxicolato deshidratado se puede obtener de la casa Baltimore Biological Laboratory, de Baltimore, Maryland.

Agar-citrato-desoxicolato. A 375 g de carne limpia de cerdo o vaca recién molida añadir 1 000 c.c. de agua destilada y acidificar la mezcla a pH 5,0-6,0 por adición de ácido clorhídrico. Hervir durante un minuto, separar la carne por tamizado y filtrar el líquido por papel. Añadir el 1 por ciento de peptona; cuando está disuelta reajustar el pH a 7,0. Hervir durante un minuto y filtrar por papel (es importante que el medio esté desprovisto de grasas y lipoides visibles).

A la infusión anterior añadir 20 g de agar y 10 c.c. de NaOH normal. Calentar a vapor fluente hasta que se disuelva el agar. Restaurar el volumen con agua destilada y añadir, en el orden que se indica, 5 g de desoxicolato sódico, 20 g de citrato sódico, 10 g de lactosa y 1 g de citrato férrico. Disolver los ingredientes y ajustar la reacción a pH 7,2-7,3 (usar rojo de fenol como indicador para titular el medio). Añadir 0,02 g de rojo neutro y mezclar. Distribuir en tubos o matraces pequeños y esterilizar durante 15-30 minutos al vapor. Guardar en la obscuridad.

Si el medio ha de ser usado para cultivar *V. comma*, la reacción final debe ajustarse a pH 8,4.

El agar-citrato-desoxicolato deshidratado se puede obtener de la casa Baltimore Biological Laboratory, de Baltimore, Maryland.

Medio de Dubos (fórmula revisada). Disolver 1 g de hidrolizado de caseína, 6,3 g de fosfato sódico dibásico, 1 g de fosfato potásico monobásico y 1,5 g de citrato sódico en 500 c.c. de agua destilada; después añadir 0,1 g de citrato férrico amoniacal, 0,6 g de sulfato de magnesio y 0,5 g de Tween 80. Añadir suficiente agua destilada para volumen total de 1 000 c.c. Distribuir en tubos o matraces según se desee y esterilizar en el autoclave a 15 libras de presión (121° C.) durante 15 minutos.

Medio de Endo. A 100 c.c. de agar fundido, estéril, al 3 por ciento, añadir 1 g de lactosa y 0,3 c.c. de solución al 10 por ciento de fucsina básica en alcohol de 95°. Añadir sulfito sódico al 2,5 por ciento hasta que la mezcla caliente tome color rosa. Esto requiere de 5 a 10 c.c. de solución. Verter sobre placas de Petri y dejarlas solidificar descubiertas para obtener una superficie seca.

Agar-eosina-azul de metileno. A 1 000 c.c. de agua destilada añadir 15 g de agar, 10 g de peptona Difco y 2 g de fosfato dipotásico (PO_4HK_2). Hervir hasta que se disuelvan todos los ingredientes y añadir agua destilada hasta rehacer el volumen. Titular y ajustar la reacción a pH 7,6. Después de añadir el álcali, llevar el medio a ebullición. Filtrar por algodón, poner en matraces (100 c.c. en cada uno) y esterilizar en el autoclave a 15 libras de presión (121° C.) durante 15 minutos. Conservar como base para preparar el medio.

Fundir el agar así preparado y añadir 5 c.c. de solución de lactosa estéril al 20 por ciento, 2 c.c. de solución acuosa estéril al 2 por ciento de eosina amarilla y 2 c.c. de solución acuosa estéril de azul de metileno al 0,5 por ciento. Mezclar bien y verter en placas de Petri.

Agar-glucosa-sangre hemolizada para N. meningitidis. Fundir 100 c.c. de agar-glucosa macerado de carne de pH 7,4-7,6, enfriar a 45°-50° C. y añadir 3 c.c. de sangre estéril desfibrinada, hemolizada previamente por la adición de 10 c.c. de agua destilada estéril. Mezclar y verter en tubos estériles para medios inclinados o en placas de Petri; dejar solidificar.

Agua-hemopeptona para H. influenzae. A un litro de agua añadir 20 g de peptona y 5 g de cloruro sódico. Disolver los ingredientes por calentamiento. Titular y ajustar la reacción a pH 7,6. Añadir 10 c.c. de glóbulos rojos lavados o 20 c.c. de sangre desfibrinada (no es necesario que la sangre sea estéril). Calentar a 95° C. o hasta ebullición. Filtrar por papel, esterilizar pasando a través de un filtro de Berkefeld o Mandler. Distribuir en tubos de ensayo estériles. Incubar por lo menos 48 horas para comprobar la esterilidad antes del uso.

Agua suero-inulina. Disolver, calentando suavemente, 2,5 g de peptona en 25 c.c. de agua destilada y ajustar la reacción a pH 7,8. A 25 c.c. de agua destilada añadir 5 g de inulina y disolver. A 350 c.c. de agua destilada añadir 100 c.c. de suero. Mezclar las soluciones de peptona e inulina con el suero diluído y añadir suficiente solución alcohólica de púrpura de bromocresol para dar

el color deseado. Distribuir en tubos (8 c.c. en cada uno) y esterilizar en el esterilizador de Arnold durante 30 minutos en tres días sucesivos.

Agar-hierro de Kligler. Es una modificación del medio original de Kligler combinando el agar-doble azúcar de Russell y el agar-acetato de plomo. Se compone de 5 g de extracto de carne, 15 g de peptona, 5 g de peptona-proteosa, 10 g de lactosa, 1 g de glucosa, 0,2 g de sulfato ferroso, 5 g de cloruro sódico, 0,4 g de sulfito sódico, 0,08 g de tiosulfato sódico, 12 g de agar y 0,024 g de rojo de fenol, por litro.

El medio deshidratado se puede adquirir de los Laboratorios Difco, en Detroit, Michigan.

Agar-triple azúcar de Krumwiede. Este medio deshidratado se puede comprar en la casa Baltimore Biological Laboratory, de Baltimore, Maryland. Se compone de 10 g de peptona, 3 g de extracto de carne, 5 g de cloruro sódico, 10 g de lactosa, 10 g de sacarosa, 1 g de glucosa, 15 g de agar y 0,025 g de rojo de fenol por 1 000 c.c. de agua destilada.

Agar de Levinthal (modificado). A una parte de caldo de Levinthal añadir una parte de agar fundido al 4 por ciento, de pH 7,4, algo enfriado; mezclar y verter en placas de Petri estériles. No incubar las placas antes de sembrarlas.

Caldo de Levinthal (modificado). A 1 000 c.c. de caldo de carne glucosado añadir 50 c.c. de sangre de conejo o de carnero y hervir en baño de María uno a dos minutos. Filtrar por papel, después por bujía de Berkefeld; poner a la estufa para comprobar la esterilidad. Diluir con igual volumen del caldo básico y distribuir en tubos o matraces.

Agar-infusión de hígado. A 500 c.c. de infusión de hígado añadir 500 c.c. de agua destilada, 5 g de peptona Difco, 5 g de cloruro sódico y 20 g de agar. Colocar todos los ingredientes en un recipiente, tapar y poner en el esterilizador de Arnold durante una hora. Enfriar, titular y ajustar la reacción a pH 7,2. Someter el recipiente a vapor fluente durante 30 minutos.

Decantar y colocar en matraces o tubos estériles y esterilizar a 15 libras de presión (121° C.) durante 30 minutos. El medio final no quedará transparente, pero ello no es inconveniente. El producto final puede quedar libre de sedimento y partículas en suspensión si se centrifuga antes de esterilizarlo.

Caldo-infusión de hígado. A 500 c.c. de infusión de hígado añadir 500 c.c. de agua destilada, 5 g de peptona Difco y 5 g de cloruro sódico. Calentar la mezcla durante 20 minutos a vapor fluente para disolver los ingredientes, titular y ajustar la reacción a pH 7,2, calentar a vapor fluente durante 15 minutos y filtrar por papel ordinario. Poner el caldo en tubos o matraces según se desee y esterilizar a 15 libras de presión (121° C.) durante 30 minutos. El pH final debe ser 6,6 ó 6,8. El caldo-infusión de hígado no deberá esterilizarse de nuevo.

Medio de Löffler. A tres partes de suero añadir una parte de caldo de carne glucosado. Distribuir en tubos (3 a 5 c.c. en cada uno) teniendo cuidado de evitar las burbujas y la espuma. Envolver los tubos con papel de periódico y esterilizar en el autoclave a 15 libras de presión (121° C.) durante 15 minutos. Elevar la presión del vapor lentamente y dejar que el autoclave se enfríe lentamente después de apagado.

El medio se puede esterilizar por esterilización fraccionada en un coagulador.

Se puede adquirir un buen medio deshidratado de los Laboratorios Difco, en Detroit, Michigan.

Medio sintético de Long. A 1 000 c.c. de agua destilada añadir 5 g de asparagina, 5 g de citrato amónico, 3 g de fosfato ácido de potasio, 3 g de carbonato sódico (anhidro), 2 g de cloruro sódico, 1 g de sulfato de magnesio, 0,05 g de citrato férrico amoniacal y 50 c.c. de glicerina.

Colocar los volúmenes deseados de esta solución en tubos o matraces y esterilizar en el autoclave a 15 libras de presión (121° C.) durante 15 minutos.

Agar de MacConkey. Disolver 17 g de agar en 500 c.c. de agua destilada, calentando en el autoclave durante 30 minutos. A 500 c.c. de agua destilada añadir 20 g de peptona, 5 g de cloruro sódico, 10 g de lactosa y 3 g de sales biliares Bacto; calentar en baño de María hasta disolver los ingredientes. Una vez disueltos, añadir a la solución de agar, mezclar y ajustar a pH 7,4. Distribuir el medio en matraces de 100 c.c. y esterilizar en el autoclave a 15 libras de presión (121° C.) durante 15 minutos.

Cuando se va a usar, fundir el agar en baño de María a 100° C., añadir 0,5 c.c. de solución de rojo neutro al 1 por ciento y verter en placas de Petri estériles (15-20 c.c. por placa).

El agar de MacConkey deshidratado, bien preparado, puede obtenerse de los Laboratorios Difco, en Detroit, Michigan.

Medio de leche. Separar la leche de la crema pasándola por sifón a otro matraz. Poner en tubos y cubrir la leche con 2 c.c. de vaselina líquida. Esterilizar en el esterilizador de Arnold durante 30 minutos, en tres días sucesivos.

Si el medio se va a usar para la diferenciación de organismos aerobios añadir suficiente solución alcohólica saturada de púrpura de bromocresol para dar el color deseado antes que el medio sea distribuído en los tubos. No cubrir con vaselina.

Medio de la National Tuberculosis Association de EE. UU. para Myco. tuberculosis. A 1 000 c.c. de agua destilada añadir 60 c.c. de glicerina y 200 g de patatas blancas finamente trituradas. Mezclar y poner en el autoclave a 15 libras de presión (121° C.) durante 30 minutos; filtrar en matraces a través de dos capas de gasa, poniendo 500 c.c. en cada matraz. Esterilizar de nuevo al autoclave.

Limpiar huevos con una gasa y colocarlos durante 2 horas en alcohol al 80 por ciento. Secarlos a la llama. Romper la cáscara con un instrumento estéril o en el borde de un vaso de precipitados estéril. Separar claras de yemas en probetas graduadas estériles.

Se mezcla un huevo completo a 11 yemas; 500 c.c. de esta combinación se filtran a través de dos capas de gasa estéril. Añadir 10 c.c. de una solución estéril al 1 por ciento de verde de malaquita.

Mezclar partes iguales de yemas de huevo y mezcla de patatas; distribuir en tubos y esterilizar en el coagulador a 90°. C. durante una hora.

Caldo-nitrato. A 1 000 c.c. de agua destilada añadir 10 g de peptona (Difco) y 0,2 g de nitrato potásico (libre de nitritos). Calentar para disolver los ingredientes; ajustar la reacción a pH 7,4-7,6 y filtrar por papel. Distribuir en tubos según se desee y esterilizar en el autoclave a 15 libras de presión durante 15 minutos.

Agua hemopeptona nitratada para H. influenzae. Se prepara de la misma manera que el agua hemopeptona, con adición de 0,02 g de NO_3K por litro. El nitrato se añade antes de esterilizar el medio. Esterilizar pasando por filtro de Berkefeld o Mandler.

Medio de Noguchi para leptospira. Hay que guardar las mayores precauciones de asepsia durante la preparación. Añadir 10 c.c. de suero fresco de conejo a 80 c.c. de solución de cloruro sódico al 0,9 por ciento, previamente calentada a unos 50° C. A esta mezcla añadir 10 c.c. de agar nutritivo fundido, al 2 por ciento, de pH 7,0, enfriado a unos 50° C., y 10 c.c. de solución de hemoglobina de conejo (3 c.c. de sangre de conejo y 9 c.c. de agua destilada). Mezclar y distribuir en tubos o matraces y colocar en la nevera hasta que el agar se solidifique. Incubar para comprobar la esterilidad.

Medio de Petroff. Macerar durante la noche en la nevera 500 g de carne picada de buey o de ternera en 500 c.c. de solución al 15 por ciento de glicerina en agua. A la mañana siguiente exprimir la carne en una prensa estéril y recoger el macerado en un vaso esterilizado.

Esterilizar las cáscaras de los huevos por inmersión durante diez minutos en alcohol de 70 por ciento. Romper los huevos en un vaso estéril, mezclar y filtrar por gasa estéril. Añadir una parte de jugo de carne a dos partes de huevo, en volumen, y añadir solución alcohólica de violeta de genciana al 1 por ciento para obtener la proporción final de 1-10 000. Los tres ingredientes se mezclan bien, se distribuyen en tubos y se esterilizan en el coagulador durante tres días sucesivos.

Sangre de conejo para cultivo de H. ducreyi. Colocar unos 2 c.c. de sangre de conejo en sendos tubos de ensayo pequeños y dejarlos coagular. Inactivar a 56° C. durante 30 minutos.

Medio de doble azúcar de Russell. A 1 000 c.c. de caldo-extracto de carne, que contiene 10 g de lactosa y 1 g de glucosa, de pH 7,6, añadir 20 g de agar y 10 c.c. de indicador de Andrade o 0,025 g de rojo de fenol. Hervir los ingredientes hasta fundir el agar, restaurar el volumen con agua destilada y filtrar por algodón. Distribuir en tubos (10 c.c. en cada uno) y esterilizar a 15 libras de presión (121° C.) durante 15 minutos. Dejar endurecer el agar en posición inclinada. Colocar los tubos bastante inclinados para que quede un buen fondo de medio.

Medio de Sabouraud para hongos (Weidman y Springer). A 1 000 c.c. de agua destilada añadir 40 g de glucosa, 10 g de peptona y 18 g de agar; hervir la mezcla hasta que funda el agar; filtrar por algodón. Colocar el medio en tubos o matraces y esterilizar en el autoclave a 15 libras de presión (121° C.) durante 15 minutos.

Caldo selenito-F para enriquecimiento. El medio de selenito-F de enriquecimiento, deshidratado, se puede adquirir en Baltimore Biological Laboratory, de Baltimore, Maryland. Se compone

de 0,4 por ciento de selenito hidrogenado sódico (anhidro), 1 por ciento de fosfato sódico (anhidro), 0,5 por ciento de peptona y 0,4 por ciento de lactosa.

Agar semisólido (Leonard y Holm). Disolver 5 g de cloruro sódico en 400 c.c. de agua destilada, añadir 5 g de peptona-proteosa Difco y 0,1 g de lactato amónico. Disolver 1 g de fosfato potásico dibásico, 1 g de fosfato potásico monobásico, 0,2 g de sulfato magnésico y 0,1 g de cloruro cálcico en pequeñas cantidades de agua destilada. Añadir estas soluciones a la primera mezcla; llevar el volumen a 1 000 c.c. con agua destilada. Titular y ajustar a pH 7,4. Hervir durante diez minutos, pesar y reponer la pérdida por evaporación con agua destilada. Filtrar por papel blando; mientras la solución está caliente añadir 3 c.c. de agar nutritivo, fundido, al tres por ciento. Distribuir en matraces y esterilizar al autoclave a 15 libras de presión (121° C.) durante 15 minutos.

Agar shigela-salmonela (S. S.). Este medio se puede comprar en forma deshidratada en los Laboratorios Difco, de Detroit, Michigan. Se compone de 5 g de extracto de carne, 5 g de peptona-proteosa, 10 g de lactosa, 8,5 g de sales biliares Bacto No. 3, 8,5 g de citrato sódico, 8,5 g de tiosulfato sódico, 1 g de citrato férrico, 13,5 g de agar, 0,33 mg de verde brillante y 0,025 g de rojo de fenol por litro.

Medio de telurito para C. diphtheriae. Es un medio selectivo recomendado por Horgan y Marshall (1932).

A un tubo que contenga 15 c.c. de agar nutritivo, de pH 7,6, fundido y llevado a 50° C., añadir 1,5 c.c. de sangre (de conejo, desfibrinada) y 1,5 c.c. de solución al dos por ciento de telurito potásico. Mezclar y verter en una placa de Petri estéril. Mientras el agar se endurece colocar la tapa de la placa en ángulo para evitar la condensación del agua sobre la superficie del medio.

Medio de tioglicolato. Este medio se puede comprar en Baltimore Biological Laboratory, de Baltimore, Maryland. Se compone del 1,0 por ciento de infusión de carne de cerdo (infusión de 37,5 g de carne de puerco), 1,0 por ciento de peptona (tio), 0,5 por ciento de cloruro sódico, 0,1 por ciento de tioglicolato, 0,05 por ciento de agar, 1,0 por ciento de glucosa y 0,0002 por ciento de azul de metileno. Disolver 36,5 g de polvo seco en 1 000 c.c. de agua destilada, calentar y dejar hervir durante un minuto. Poner el medio en tubos (formando en cada uno una columna de unos 7 cm de alto) y esterilizar en el autoclave de la manera usual. No debe guardarse en la nevera ya que una temperatura baja aumenta la solubilidad de los gases atmosféricos y dificulta la anaerobiosis. No debe prepararse de una vez más que lo necesario para unas semanas.

Agar-hierro-triple azúcar (Hajna). Este medio deshidratado se puede comprar en Baltimore Biological Laboratory, de Baltimore, Maryland. Se compone de 10 g de tripticasa, 10 g de tiopeptona, 5 g de cloruro sódico, 10 g de lactosa, 10 g de sacarosa, 1 g de glucosa, 0,2 g de sulfato férrico amoniacal, 0,2 g de tiosulfato sódico, 0,025 g de rojo de fenol y 13 g de agar por 1 000 c.c. de agua destilada.

Huevo de gallina embrionado como medio de cultivo. El huevo de gallina fértil ya fué usado en 1911 por Rous y Murphy como medio de cultivo para un virus. Pero sólo veinte años después se aprovecharon sus posibilidades como medio de cultivo casi universal para parásitos obligados. En 1931, Woodruff y Goodpasture estudiaron las lesiones producidas por el virus de viruela de las aves de corral en los huevos de gallina embrionados; en 1933, Burnet modificó la técnica de inoculación de modo que pudiera inyectarse una proporción mayor de tejido. El aumento espectacular en el conocimiento de la mayor parte de los virus y de las rickettsiosis se ha logrado utilizando el huevo fértil como medio. Por su tamaño y su natural esterilidad permite obtener cantidad suficiente de material para estudios químicos y antigénicos y para vacunas.

El cultivo de virus y rickettsias en huevos embrionados constituye una verdadera especialidad que necesita entrenamiento y experiencia. Además, lo mismo que en la inoculación animal, para obtener los mejores resultados debe determinarse la edad del embrión y la vía de inoculación para cada agente infeccioso. Los detalles de los diversos métodos de inoculación se pueden encontrar en las referencias correspondientes a cada microorganismo. Un estudio general se puede encontrar en la mono-

grafía de Burnet (1936). En la figura 248 se presenta, como orientación, un dibujo esquemático del embrión en edad conveniente para la inoculación. Esta se puede lograr dejando caer el material infeccioso a través de una abertura hecha en el pico del cascarón directamente sobre la corioalantoides, después de haber sido atraída desde el extremo de la cáscara por una succión suave del saco de aire que hay en

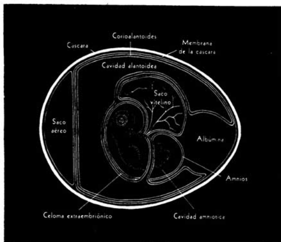


FIG. 248. DIBUJO ESQUEMÁTICO DEL HUEVO DE GALLINA EMBRIONADO.

el extremo del huevo. Haciendo en la cáscara una ventana relativamente grande, cubriéndola con un cubreobjetos estéril y cerrando sus bordes con una mezcla de parafina-vaselina, se puede observar directamente el desarrollo de las lesiones en la membrana corioalantoides. Si la abertura es pequeña puede determinarse la muerte del embrión por transiluminación.

Según las características del agente infeccioso, la inoculación se puede hacer directamente en la cavidad alantoidea o en el saco vitelino. Tales inoculaciones no son difíciles si se determina la posición del embrión por transiluminación y se emplean agujas de longitud y diámetro adecuados.

BIBLIOGRAFIA

AVERY, O. T. *J.A.M.A.*, 1918, 71:2050.
BREWER, J. H. *J.A.M.A.*, 1940, 115:598.
BURNET, F. M. *J. Path. & Bacteriol.*, 1933, 37:107.
—— *Med. Research Council*, Special Rept., Series No. 220, 1936.

CHRISTENSEN, W. B. *J. Bacteriol.*, 1946, 52:461.
CLARK, W. M. *The Determination of Hydrogen Ions*, 2nd ed., Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1927.
——— and LUBS, H. A. *J. Bacteriol.*, 1917, 2:1, 109, 191.
DUBOS, R. J., DAVIS, B. D., MIDDLEBROOK, G., and PIERCE, C. *Am. Rev. Tuberc.*, 1946, 54:204.
DUPRAY, M. *J. Bacteriol.*, 1924, 9:179.
FLEMING, A. *Lancet*, 1919, 1:138.
HAJNA, A. A. *J. Bacteriol.*, 1945, 49:516.
HORGAN, E. S., and MARSHALL, A. *J. Hyg.*, 1932, 32:544.
KLIGLER, I. J. *Am. J. Pub. Health*, 1917, 7:1042.
KRUMWIEDE, C., JR., and KOHN, L. A. *J. Med. Research*, 1917, 37:225.
LEIFSON, E. *J. Path. & Bacteriol.*, 1935, 40:581.
——— *Am. J. Hyg.*, 1936, 24:423.
LEONARD, G. F., and HOLM, A. *J. Immunol.*, 1935, 29:209.
LEVINE, M., and SCHOENLEIN, H. M. *A Compilation of Culture Media*, The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1930.
LEVINTHAL, W., and FERNBACH, H. *Ztschr. f. Hyg.*, 1922, 96:456.
LONG, E. R. and SEIBERT, F. B. *Am. Rev. Tuberc.*, 1926, 13:393.
ROUS, P., and MURPHY, J. B. *J.A.M.A.*, 1911, 56:741.
RUSSELL, F. *J. Med. Research*, 1911, 25:217.
SASANO, K. T., and MEDLAR, E. M. *Am. Rev. Tuberc.*, 1943, 48:297.
WEIDMAN, F. D., and SPRINGER, D. *Arch. Dermat. & Syph.*, 1928, 18:829.
WILSON, W. J., and BLAIR, E. M. M'V. *J. Path. & Bacteriol.*, 1926, 29:310.
WOODRUFF, A. M., and GOODPASTURE, E. W. *Am. J. Path.*, 1931, 7:209.

CAPITULO LXXII

METODOS USADOS EN EL CULTIVO DE BACTERIAS

SIEMBRA DE LOS MEDIOS

La transferencia de las bacterias desde los productos patológicos a un medio, o de un medio a otro, suele efectuarse por medio de un alambre o asa de platino. El alambre de platino debe tener cinco a siete centímetros de longitud y poco diámetro, pero el suficiente para que sea bastante rígido (B. & S. Nº 24). Un extremo del alambre se sujeta a un *portaagujas;* el otro suele doblarse para formar una asa de varios milímetros de diámetro. Para la siembra de cultivos por *picadura* se usa un alambre o *aguja* recta.

Cuando se siembran medios contenidos en placas de Petri, la tapa de la placa debe mantenerse sobre ella de modo que la mayor parte de la superficie del medio sea protegida de los organismos que caen del aire. Sin embargo, los bacteriólogos experimentados suelen levantar la parte inferior de la placa y hacen las estrías sin cubrirlas, pero este método no se recomienda hasta que se adquiera rapidez y pericia.

La siembra de los medios contenidos en tubos o matraces requiere mucho mayor cuidado, ya que un solo organismo contaminante del aire puede superar en crecimiento al organismo patógeno. Para el manejo de tales materiales por los principiantes se recomiendan las siguientes precauciones: 1) mantener inclinado el tubo que contiene el cultivo que se va a transferir de modo que los microorganismos del aire caigan en las paredes del tubo cerca de la boca; 2) retorcer el algodón dentro del tubo para desprender todas las hebras adheridas; 3) sacar el tapón colocando el dorso de la mano hacia el tubo de manera que se sostenga entre los dedos pequeño y anular; 4) flamear ligeramente la boca del tubo; 5) flamear el asa; 6) sumergirla en el medio sin tocar las paredes del tubo; 7) dejarla varios segundos para que se enfríe; 8) tocar el cultivo; 9) sacar el asa; 10) flamear la boca del tubo; 11) volver a colocar el tapón. El material que hay en el asa puede ser transferido a otro tubo, sembrado en estrías, en placas o colocado sobre un portaobjetos para tinción. Si las bacterias van a ser transferidas a otro tubo deberán tomarse las mismas precauciones en cuanto a flamear la boca del tubo, antes de la siembra y después de ella. Una vez hecha la transferencia del cultivo se flamea el asa para destruir todos los organismos residuales.

Aunque difícil al principio, un método más rápido y seguro de pasar las bacterias de un tubo a otro es sostener ambos tubos, lado con lado, con una mano, estando sus bocas al mismo nivel. Después de retorcer el algodón en cada tubo, se pueden sacar los dos tapones simultáneamente entre el meñique y la base de la palma, lo cual deja al pulgar y a los otros dedos libres para manejar el mango del asa. Entonces se pueden flamear ambos tubos, hacer la transferencia, volver a flamear los tubos, poner de nuevo los tapones y quemar el asa.

Aislamiento de bacterias en cultivo puro. En la mayor parte de los casos el cultivo de las bacterias del agua, leche, productos patológicos u otras fuentes se complica por el hecho de que puede haber en la misma muestra muchas especies de bacterias. El estudio bacteriológico científico de una bacteria sólo resulta posible si se obtiene la especie particular en "cultivo puro". Los primeros métodos introducidos para obtener un cultivo puro, ideados por Pasteur, Cohn y otros, estaban ba-

sados en el poder de ciertas especies de superar el desarrollo de otras. Tales técnicas, usando medios líquidos, se fundan principalmente en preparar diluciones seriadas del producto que se va a sembrar. La introducción de los medios sólidos por **Koch** obvió estas dificultades, ya que se pudieron preparar medios que eran líquidos cuando calientes y sólidos a temperaturas más bajas. Tales medios se pueden usar en *placas vertidas*, si se siembran antes de la solidificación, o en el medio ya solidificado sembrando en *estrías*.

En las *placas vertidas* las bacterias se dispersan por el medio licuado y entonces se le deja enfriar rápidamente, de modo que se distribuyan por todo él. Las *colonias* separadas que se desarrollan a partir de microorganimos aislados, son descendientes de microorganismos únicos. Tales colonias pueden transferirse a medios de cultivo estériles, lográndose así el aislamiento deseado.

Antes de *verter* el medio en las placas suelen prepararse tres diluciones seriadas del material de estudio. Para ello se usan tres tubos conteniendo cada uno 10 c.c. de caldo estéril. Se pasa a uno de los tubos desde una asa hasta 0,5 c.c., según el número de organismos presentes en el frotis directo, y se mezcla bien el contenido. Un centímetro cúbico de esta mezcla se pasa entonces a un segundo tubo y después de mezclar, 1 c.c. de la segunda mezcla se transfiere al tercer tubo. De las mezclas en los tubos segundo y tercero se añaden 0,1 c.c. a cada uno de dos tubos de agar fundido y enfriado a 40° C. En este momento se añade la sangre citratada (1,0-2,0 c.c.) y se mezclan los ingredientes. Debe evitarse el sacudimiento para prevenir la formación de burbujas. Las mezclas se vierten entonces en placas de Petri estériles. La tapa de cada placa se levanta estrictamente lo suficiente para permitir la entrada del extremo del tubo de ensayo, cuyo labio se ha pasado por la llama. Al verter el medio en la placa no debe permitirse que el tubo toque ni la parte inferior, ni la cubierta de la misma. Se coloca luego la tapa y se deja endurecer el medio.

El éxito del método de la placa vertida depende sobre todo del número de colonias que se desarrollen en ella. Si el material sembrado contiene demasiadas bacterias, las colonias resultantes son tan pequeñas que no se pueden determinar las características morfológicas diferenciales. Además, en las placas que contienen más de cien colonias, éstas están tan apiñadas que resulta en extremo difícil resembrar una de ellas.

Las placas vertidas se usan principalmente para aislar estreptococos hemolíticos de materiales muy contaminados, como los que se pueden encontrar al hacer los cultivos de garganta y esputos. En tales casos el medio contiene sangre para que así se puedan observar los tipos de hemólisis.

Las placas vertidas son también de gran valor en los hemocultivos, porque en ellas se puede estimar el grado de bacteriemia.

La identificación de colonias en placas vertidas requiere gran experiencia; factores como la profundidad de la colonia en la placa y el grado de apiñamiento pueden causar alteraciones profundas en el aspecto de las diferentes colonias del mismo organismo. Así, la colonia hemolítica pequeña de *Strep. hemolyticus* puede ser simulada por una cepa hemolítica de *Staph. aureus* si ésta crece en la profundidad del agar. Si el estafilococo se deposita superficialmente crecerá allí y desarrollará la típica colonia grande mantecosa.

La ventaja principal de la placa vertida es que la acción de los metabolitos bacterianos sobre el medio circulante es mucho más intensa que en la superficie del medio.

Durante la incubación, las placas se conservan invertidas para evitar que el agua de condensación, separada del agar durante el proceso de endurecimiento, se reúna en la superficie y forme canales por donde difundan las bacterias.

Si se incuban a 37,5° C., las colonias suelen aparecer en 18 a 24 horas; a la temperatura de la habitación, en 24 a 48 horas, según la especie de bacteria que se estudia. En muchos casos en la segunda dilución, pero con mayor frecuencia en la tercera, las colonias estarán suficientemente separadas para que puedan tomarse con el asa.

Separación de las bacterias por estrías. Si las placas se siembran en estría de manera conveniente, aparecerán colonias separadas de microorganismos.

Cerca de un borde del medio se coloca una asa de material y con la propia asa se extiende para obtener una zona pequeña, pero gruesa, de material sembrado. Esta zona de estrías gruesas no debe cubrir más de un quinto o un sexto de la superficie total de la placa. Entonces se flamea el asa, se enfría y, sin levantarla, se hace una toma en esta zona groseramente extendida y se lleva en una y otra dirección a través de la porción no sembrada de la placa, haciendo 8 a 10 líneas paralelas separadas entre sí de 0,5 a 1,0 cm. Se vuelve a flamear el asa, se enfría y se hace una serie de estrías en ángulo recto con las primeras y separadas igualmente; es importante no tocar la zona sembrada al principio. Al sembrar una placa en estrías es importante que el mango del asa sea sostenido en un punto próximo a su centro de gravedad. De este modo, la presión del asa sobre el agar es mínima y no se hacen "cortes" en el medio.

Método de la pipeta de Barber para aislar microorganismos. Como el aparato y la técnica son demasiado complicados para que la simple descripción en un libro de texto permita emplear el método, se aconseja la lectura del artículo de Barber (1914).

Aislamiento de células aisladas por observación directa sobre el agar. Se pueden obtener cepas de bacterias a partir de una sola célula por observación directa sobre agar como aconsejan Hort (1886), Orskov (1922), Reimann (1925) y otros autores.

Se llenan portaobjetos excavados con agar que se deja endurecer. Sobre la superficie del agar se extiende una asa de un caldo de cultivo joven diluído (una asa de cultivo en caldo de 12 a 24 horas para 5 c.c.). La preparación se cubre con cubreobjetos, se cierran los bordes con vaselina y se deja estar durante 30 minutos para que sedimenten los organismos. Se separa el cubreobjetos; se localiza un coco aislado, se le lleva al centro del campo, después de lo cual se da vuelta al objetivo, se vuelve a colocar el cubreobjetos y el microscopio y el cultivo se llevan a una incubadora a 37,5° C. durante 6 a 12 horas. Al cabo de este tiempo, la colonia derivada de una célula será bastante grande para resembrarla.



Fig. 249. Placa de Spray.

Métodos para disminuir la tensión de oxígeno. Producción de mezclas de CO_2. Muchas bacterias se aislan en una atmósfera que contiene anhídrido carbónico en concentración aproximada de 10 por ciento. Para estudios en los cuales se desea tener concentraciones precisas de un gas, las placas, tubo o matraces se colocan en una cubeta de boca grande que tiene una tapa preparada especialmente, conteniendo una llave a la cual se le puede insertar un tubo de goma. El borde de la cubeta se cierra herméticamente con material plástico adecuado; se puede extraer un volumen determinado de aire conectando la llave con dos frascos que contienen agua, conectados en serie por un dispositivo de sifón, de modo que el cambio de nivel del agua se puede obtener fácilmente. El aire extraído se puede reemplazar por anhídrido carbónico u otro gas introduciéndolo en el primer frasco de la serie y reajustando el nivel del agua en los frascos conectados.

Para el trabajo bacteriológico corriente la placa de Spray o el método de la bujía resultan adecuados. La *placa de cultivo de Spray* (fig. 249) fué usada por Joyner y Jones (1937) para cultivos que requieren una tensión aumentada de CO_2. Se pone 1 c.c. de una solución molar de bicarbonato sódico en un compartimiento de la base de la placa y en el otro se coloca 1 c.c. de una dilución al 1/30 de ácido sulfúrico concentrado. El medio sembrado en la tapa de la placa de Spray se cierra herméticamente con parafina fundida; entonces se mezclan las substancias químicas del fondo inclinando la placa.

En la *técnica de la bujía* los cultivos se colocan en una cubeta de boca ancha con rosca en la parte superior. Dentro de la cubeta se coloca, con los cultivos sembrados, una bujía encendida y se cierra la cubeta roscando la tapa. La luz de la bujía se extingue cuando el oxígeno se consume, dejando suficiente CO_2 para estimular el desarrollo.

En los cultivos sobre agar inclinado, se puede obtener una atmósfera rica en CO_2 calentando la parte superior del tubo para obligar a salir parte del aire, y soplando entonces aire expirado en el tubo a través de una pipeta estéril con tapón de algodón; inmediatamente después debe insertarse un tapón de goma estéril.

Métodos anaerobios. En el método de Liborius, tubos profundos, llenos de agar glucosado o gelatina, se hierven durante 15 minutos o más para expulsar todo el oxígeno. Después de la ebullición se colocan rápidamente los tubos en agua helada, de modo que se absorbe el menor volumen posible de oxígeno durante el endurecimiento del medio. Se siembran los tubos en profundidad, por picadura, inmediatamente antes que el medio se endurezca y se dispone una delgada capa de agar, gelatina o vaselina encima de él.

Como ayuda para el cultivo anaerobio se puede usar tejido fresco estéril, colocando pedacitos de tejidos de conejo o de cobayo en los medios de cultivos sólidos o líquidos. Esta técnica, creada por Teobaldo Smith y por Tarozzi, fué utilizada ampliamente por Noguchi para cultivar diversos treponemas. En el fondo de un tubo de ensayo alto (20 c.c.) se coloca un pedazo de riñón, testículo o bazo recién extraído del animal, y sobre él se vierte el cultivo líquido. La acción del tejido depende de su consumo de oxígeno y de su elevado poder reductor.

El desplazamiento del aire por hidrógeno, utilizado primero por Hauser (1885), ha sido aplicado al cultivo de bacterias anaerobias. Consiste en hacer pasar una corriente de hidrógeno a través de una cámara herméticamente cerrada en la que se han colocado las placas o tubos que contienen los medios sembrados.

El método de McIntosh y Fildes (1916) probablemente es el mejor para obtener un medio absolutamente anaerobio para cultivos en tubo o en placa. Se extrae el aire mediante una bomba de vacío y se reemplaza por hidrógeno. El oxígeno residual se elimina combinándolo con el hidrógeno por acción de lana de amianto con paladio caliente. El método requiere cubetas de boca grande con tapas especiales que contienen el catalítico y una espiral de calentamiento. Las condiciones anaerobias deben comprobarse colocando un tubo de agua teñida con azul de metileno dentro de la cubeta: si son adecuadas, la solución debe hacerse incolora.

El método de Rosenthal incluye el uso de ácido sulfúrico y cromo metal. La reacción sirve para desplazar el aire por generación de hidrógeno y absorber el oxígeno residual por el compuesto de cromo formado.

Buchner (1888) aplicó el principio de la absorción química para separar el oxígeno al cultivo de bacterias anaerobias. Las soluciones alcalinas de pirogalol tienen la propiedad de absorber grandes cantidades de oxígeno libre. Al principio tales soluciones tienen color pajizo brillante, haciéndose morenoobscuras a medida que toman oxígeno. Se puede suponer que se ha absorbido todo el oxígeno cuando no aumenta la intensidad del color moreno.

Si se usan medios inclinados, el material que se va a cultivar se siembra en estría sobre la superficie del medio contenido en un tubo de ensayo ordinario. En un tubo de mucho mayor tamaño se coloca una pequeña cantidad de ácido pirogálico (aproximadamente media cucharadita) y se cubre con un poco de algodón. Se echan entonces (sobre el algodón) de 3 a 5 c.c. de solución de hidróxido sódico al 20 por ciento y el tubo sembrado se coloca rápidamente dentro del tubo grande que se tapa herméticamente con tapón de goma. Las condiciones anaerobias se irán produciendo conforme el álcali vaya filtrando a través del algodón para reaccionar con el ácido pirogálico.

Spray (1930) ideó una placa de cultivo especial (fig. 249) para cultivo de anaerobios, que se usa con ácido pirogálico e hidróxido de sodio.

Además de tales métodos se pueden obtener cultivos sin recurrir a vasos para anaerobiosis, utilizando diversos medios, como el de tioglicolato. Véase al respecto la sección sobre medios de cultivo.

Incubación de los cultivos. Los medios de cultivo sembrados deben incubarse a una temperatura favorable para el desarrollo de los organismos correspondientes. La temperatura de la habitación es suficiente para el crecimiento óptimo de muchos hongos saprófitos y patógenos, pero la mayor parte de las bacterias patógenas requieren 37,5° C.

Cualquier temperatura uniforme puede mantenerse colocando los cultivos en estufa regulada por termostato. Para cultivos en gelatina se opera a 20 ó 22° C.; para agar, caldo y otros medios, a 37,5° C.

Las estufas de cultivo consisten en una cámara de cobre de doble pared llena de agua; también pueden ser construídas de paredes sólidas a base de materiales refractarios.

Para mayores detalles acerca de la construcción de estufas y termorreguladores véanse los catálogos de los fabricantes y distribuidores.

BIBLIOGRAFIA

Barber. *Philippine J. Sc.*, Aug., 1914, Sec. B, 9:N° 4.
Buchner, H. *Centralbl. f. Bakt.*, 1888, 4:149.
Hauser. *Über Fäulnissbakterien*, 1885.
Hort, E. C. *J. Hyg.*, 18:361.
Joyner, A. L., and Jones, C. P. *J. Lab. & Clin. Med.*, 1937, 22:1184.
Liborius, P. *Ztschr. f. Hyg.*, 1886, 1:115.
McIntosh, J., and Fildes, P. *Lancet*, 1916, 190:768.
Orskov, J. *J. Bacteriol.*, 1922, 7:537.
Reimann, H. A. *J. Exper. M.*, 1925, 41:587.
Rosenthal, L. *J. Bacteriol.*, 1937, 34:317.
Spray, R. S. *J. Lab. & Clin. Med.*, 1930, 16:203.

CAPITULO LXXIII

METODOS PARA DETERMINAR LAS ACTIVIDADES BIOLOGICAS DE LAS BACTERIAS. EXPERIMENTACION EN EL ANIMAL

El amplio margen de actividades biológicas de las bacterias ha sido tratado brevemente en el Capítulo IV. Aquí sólo describiremos algunas pruebas para productos metabólicos, empleados comúnmente en la identificación de las bacterias patógenas.

Formación de gas. La producción de gas, a partir de ciertos constituyentes proteínicos o hidrocarbonados de los medios, es importante para reconocer muchos microorganismos patógenos, particularmente los del grupo entérico. Como para la identificación no importa ni la cantidad ni la naturaleza del gas, sólo es necesario determinar si éste se forma o no. Para descubrir el gas en medios líquidos como caldo con diversos carbohidratos, el método más simple consiste en colocar en el tubo de ensayo pequeños tubos invertidos que recogen las burbujas de gas formadas por las bacterias. Tales tubos de fermentación deben examinarse antes de la siembra, ya que es frecuente encontrar pequeñas burbujas de aire dentro de los tubitos colocados en los tubos estériles de los medios, especialmente si se han guardado en la nevera durante algún tiempo.

En medios sólidos, como los tubos verticales de doble azúcar de Russell, también se pueden observar las burbujas. En tales medios es importante hacer la siembra con un alambre recto para evitar la ruptura del agar como sucedería si la picadura se hiciera con el asa.

Formación de ácido y álcali por las bacterias. La producción de ácido o álcali en los medios de cultivo depende de la naturaleza del material nutritivo; muchos organismos que producen ácido en los carbohidratos producirán álcali si se cultivan en un medio que sólo contenga proteínas. Tales cambios suelen comprobarse añadiendo a los medios indicadores adecuados como el rojo de fenol o el púrpura de bromocresol, que cambia de color al variar el pH.

Para la diferenciación es muy útil añadir a los medios, que ya contienen un indicador, carbohidratos químicamente puros y determinar si se forma ácido a partir de estas substancias por acción de los microorganismos.

Los ácidos producidos con mayor frecuencia por las bacterias son el láctico, acético, oxálico, fórmico e hipúrico, dependiendo en gran parte de la naturaleza del medio nutritivo.

Producción de indol por las bacterias. Muchas bacterias producen indol cuando el medio contiene triptófano y productos de hidrólisis de las proteínas con triptófano. Como algunas bacterias carecen de la facultad de producir indol en tales substratos las reacciones del indol tienen valor diferencial.

La producción de indol por las bacterias se descubre añadiendo reactivo de Ehrlich a un cultivo de 24 ó 48 horas, en agua de peptona o en cualquier caldo libre de azúcar en la siguiente forma:

Reactivo de Ehrlich (para indol)

Reactivo:	Paradimetilaminobenzaldehido	4 g
	Alcohol etílico de 95°	380 c.c.
	Acido clorhídrico concentrado	80 c.c.

Técnica:

1. Agitar unos 5 c.c. de un cultivo en caldo con 1 c.c. de éter. El indol se disuelve en el éter. Dejar que el éter vaya a la parte superior y esperar hasta que forme una capa clara.

2. Dejar deslizar por la pared del tubo unos 0,5 c.c. de reactivo de Ehrlich. Este se extenderá en capa entre el éter y el caldo.

3. Si hay indol aparecerá color rosa o rojo en la zona de contacto del éter y el reactivo de Ehrlich, y el color pasará a la capa de éter. No agitar el tubo después de añadir el reactivo de Ehrlich, pues el color aparece difícilmente si se mezcla el contenido.

Reacción roja del cólera. Se añaden algunas gotas de ácido sulfúrico concentrado a un cultivo de dos a tres días de vibrión colérico en solución de peptona. La prueba positiva, indicada por la aparición del color rosa purpúreo, resulta de la reacción indol-nitrosa.

Producción de fenol. El fenol es uno de los productos derivados de la lisis de las proteínas por acción bacteriana; se puede determinar su presencia en cultivos en caldo de tres a cuatro días desarrollados en matraces que contengan de 50 a 100 c.c. de caldo nutritivo. Se añaden 5 c.c. de ClH concentrado al cultivo, se conecta el frasco a un condensador y se destilan de 10 a 20 c.c.

Se añaden al destilado 0,5 c.c. del reactivo de Millon (solución de nitrato mercurioso en ácido nítrico) o 0,5 c.c. de solución de cloruro férrico. La aparición de color rojo en el reactivo de Millon o de color violeta con cloruro férrico indican la presencia de fenol.

Poder reductor de las bacterias. La capacidad reductora de las bacterias se puede demostrar y medir observando la acción del microorganismo sobre colorantes, electrólitos u otras substancias.

La reducción de nitratos a nitritos tiene cierto valor diferencial; la prueba es como sigue:

Prueba del ácido sulfanílico para los nitritos:

Solución A.	Acido sulfanílico	8 g
	Acido acético 5 N (p. esp. 1,041)	1000 c.c.
Solución B.	Alfanaftilamina	5 g
	Acido acético 5 N (p. esp. 1,041)	1000 c.c.

Filtrar por algodón absorbente lavado.

Técnica:

1. A 5 ó 10 c.c. del cultivo en caldo nitratado se añade 0,1 c.c. de la solución de ácido sulfanílico.
2. Añadir la solución de alfanaftilamina gota a gota hasta que aparezca color rojo. En presencia en nitritos se forma un compuesto azoico de color rojo. Los reactivos deben añadirse en el orden señalado.

Acción enzimática. La acción enzimática de las bacterias se demuestra añadiendo las bacterias o los filtrados de sus cultivos a un substrato adecuado. Como la mayor parte de las enzimas hidrolíticas difunden rápidamente en los medios de cultivo, pueden ser fácilmente separadas de las células bacterianas por cualquier técnica de filtración.

La licuefacción de la gelatina, de la fibrina o del suero sanguíneo coagulado y la peptonización de la leche son ejemplos comunes de la *actividad enzimática proteolítica* que puede ser observada por el crecimiento de las bacterias en medios adecuados. Se puede demostrar la formación de coagulasa por ciertos estafilococos piógenos añadiendo pequeñas cantidades de un filtrado de cultivo a plasma humano y observando la formación de coágulo.

La *actividad amilolítica* de un organismo se determina añadiendo una pequeña cantidad de un cultivo productor de amilasa a una pasta de almidón que contenga suficiente fenol para impedir el desarrollo de contaminantes. La cantidad de amilasa puede ser medida observando la disminución en la viscosidad, desaparición del color azul característico con el yodo y formación de azúcar reductor.

La producción de *sacarasa* se puede demostrar mezclando cultivos bacterianos con una solución diluída de azúcar de caña y analizando el filtrado para investigar la presencia de glucosa.

EXPERIMENTACION EN EL ANIMAL

La virulencia de un microorganismo para un animal determinado y la naturaleza de las lesiones producidas suelen ser características de gran valor diferencial. El

aislamiento de muchos gérmenes patógenos del hombre se facilita inoculando animales susceptibles y recuperando el microorganismo de la sangre del corazón o de las lesiones específicas producidas en los diversos órganos. La investigación de los fenómenos inmunológicos sería absolutamente imposible sin inoculación al animal, ya que sólo así puede observarse la relación de las bacterias con los tejidos vivos, células y líquidos orgánicos.

Los animales más comúnmente empleados son cobayos, ratones blancos, ratas blancas y conejos. El método de inoculación puede ser subcutáneo, intrapleural, intraperitoneal, intravenoso o subdural, etc. La vía de administración puede influir sobre el curso de una infección tanto como la virulencia del microorganismo o la dosis empleada. Al hacer la inoculación debe cortarse y afeitarse el pelo del animal; luego se desinfecta la piel con alcohol o yodo.

Las *inoculaciones subcutáneas* se hacen de la mejor forma en la pared abdominal, donde la piel es fina. Se levanta la piel entre los dedos y la aguja se introduce oblicuamente para no atravesar la pared abdominal y penetrar en el peritoneo.

Las *inoculaciones intracutáneas* se hacen *en el espesor* de la piel después de quitar el pelo. Trasquilar primero y después afeitar resulta adecuado si se hace con gran cuidado para evitar erosiones y cortes. En muchos casos es preferible aplicar un depilatorio. Puede usarse la solución de sulfuro de bario descrita por Carmichael (1932). Debe evitarse que el material inyectado penetre en el tejido subcutáneo.

Al hacer *inoculaciones intraperitoneales* debe evitarse el pinchar el intestino sosteniendo al animal cabeza abajo, atravesando oblicuamente la piel, luego dirigiendo la aguja perpendicularmente y perforando el peritoneo por punción muy superficial.

Las *inoculaciones intravenosas* en los conejos se hacen en las venas marginales de las orejas. Los ratones y las ratas se pueden inyectar intravenosamente usando agujas suficientemente finas. Hay cuatro venas situadas superficialmente que corren a lo largo de la cola y se hacen prominentes cuando se frotan con algodón humedecido en xilol.

Si se trabaja sin ayuda pueden usarse las diversas formas de soportes que se han ideado para animales.

Las autopsias de los animales infectados son peligrosas si no se efectúan con extremo cuidado. El cuerpo del animal debe ser atado, boca arriba, y humedecido con agua caliente o con solución débil de ácido fénico para evitar la contaminación por el pelo. Se hace un corte medio, se diseca la piel cuidadosamente y las cavidades se abren con instrumentos estériles. Se hacen entonces cultivos con los exudados, sangre u órganos, guardando precauciones similares a las recomendadas para casos similares en necropsias humanas.

Los animales inoculados deben tenerse separados de los animales sanos. Los conejos y cobayos se guardan en jaulas de alambre galvanizado provistas de pisos adaptables que se pueden sacar, limpiar y esterilizar. Los ratones se pueden tener en vasos de vidrio provistos de tapas de metal perforadas. Deben proporcionarse a los ratones grandes trozos de algodón ya que son extremadamente sensibles al frío.

Sangría de los animales. Los conejos y cobayos se pueden sangrar directamente pinchándoles el corazón. Primero, debe anestesiarse ligeramente al animal, trasquilarse la porción anterior del tórax y mojarse con tintura de yodo. Una aguja del Nº 22, de unos cinco centímetros de longitud, se introduce por el tercer espacio intercostal, junto al esternón, ejerciendo al mismo tiempo una ligera succión sobre la jeringa. Los conejos y cobayos también se pueden sangrar por la arteria carótida. Se pueden repetir las sangrías a los animales si se hacen con cuidado.

Los animales mayores, como ovejas, cabras y caballos, se sangran con facilidad pinchando con una aguja estéril la vena yugular externa que va desde inmediatamente detrás del ángulo de la mandíbula inferior hasta la articulación esternoclavicular.

Si se desea suero se puede recoger la sangre en cualquier recipiente, dejarla coagular a la temperatura de la habitación y colocarla en la nevera a fin de que se produzca la retracción del coágulo.

La sangre desfibrinada se obtiene agitando la sangre en un matraz que contenga perlas o pedacitos de vidrio. La sangre de carnero para las reacciones de fijación del complemento se recoge

directamente en un matraz que contenga una cantidad equivalente de solución de Alsever (Alsever y Ainslie, 1941). La mezcla se conserva durante seis a diez semanas.

BIBLIOGRAFIA

ALSEVER, J. B. and AINSLIE, R. B. *New York State J. Med.*, 1941, 41:126.
CARMICHAEL, E. B. *Science*, 1932, 75:136.
SIERAKOWSKI. *Biochem. Ztschr.*, 1924, 152:111.

CAPITULO LXXIV

FILTRACION Y OTRAS TECNICAS

Los filtros usados para separar las bacterias de los líquidos son de cuatro tipos principales: 1) filtros de tierra de diatomeas (Berkefeld, Mandler); 2) filtros de porcelana deslustrada (Pasteur-Chamberland, Doulton, Massen); 3) filtros de asbesto (Seitz); 4) filtros de vidrio.

Además de los filtros de los tipos citados, se usan membranas de colodión para separar las bacterias de los líquidos. Con frecuencia se utilizan para separar partículas de dimensiones infrabacterianas para estudiar el tamaño de partículas, de virus ultramicroscópicos, bacteriófagos y coloides.



Fig. 250. Filtro de Berkefeld.

Los filtros del primer grupo se llaman filtros bacterianos; los del segundo, ultrafiltros.

La aspiración es el medio más conveniente para hacer pasar el líquido a través de estos filtros. El aire del interior del matraz o de un sistema de filtros, se extrae por medio de una bomba de vacío (de agua o eléctrica). Si se dispone convenientemente un manómetro de mercurio, se puede observar y regular la presión durante la filtración. En la figura 250 pueden verse dos dispositivos de conexión lateral al cuello del matraz para filtración por aspiración. La filtración debe llevarse a cabo tan rápidamente como se pueda a una presión tan baja como sea posible. Lo mejor es no usar presión mayor de 35 a 50 cm de mercurio.

Los *filtros de Berkefeld* son bujías huecas de diatomeas comprimidas, unidas con cemento a una base metálica. A nivel de esta unión es donde pueden producirse roturas o escapes. La base metálica se prolonga en tubo de metal por el cual se puede conectar el filtro a los recipientes para el filtrado. Los hay de tres tipos: V (en alemán *viel*, mucho), relativamente grosero; N (normal), intermedio y W (en alemán *wenig*, poco), el más fino.

Los filtros V se usan para clarificación rápida y separación de la mayor parte de las bacterias existentes en un líquido. Los filtros N suelen separar todas las bacterias pero dejan pasar al filtrado la mayor parte de los virus. Los filtros W retienen las bacterias así como los virus de mayor tamaño.

Los *filtros de Mandler*, construídos como los de Berkefeld, están hechos de una mezcla de tierra de infusorios, yeso y asbesto. Hay tres grados que corresponden aproximadamente a los V, N y W de los de Berkefeld.

Los *filtros de Chamberland*, de porcelana, están hechos de "caolín con mezcla de arena". Los filtros de Pasteur Chamberland se fabrican en ocho grados: L_1, L_1 bis, L_2, L_3, L_5, L_7, L_9 y L_{11}. Los filtros L_1 corresponden a los filtros de Berkefeld V. Los filtros que suelen retener las bacterias son los L_2 y L_3. Los de Chamberland L_5 retienen muchos de los virus filtrables.

Los *filtros de Seitz* están hechos de asbesto y se obtienen en discos de tamaños diferentes y en dos grados de porosidad. El grado E. K. *(Entkeimung)* se usa para las filtraciones bacterianas. Estos discos de asbesto resultan muy eficaces. Para usarlos se adaptan a un depósito especial de metal, con las junturas suficientemente apretadas para impedir el paso de las bacterias; a veces resultan bastante porosos para impedir el paso del aire, y se produce una espuma molesta. Después del uso los discos se tiran, evitándose así el trabajo de limpieza.

Los *filtros de vidrio* están hechos con vidrio triturado en partículas muy finas de tamaño uniforme, moldeados en forma de pequeños discos y calentados hasta que se hagan compactos sin adición de ninguna otra substancia. Estos discos después se adaptan por fusión a los correspondientes tubos de vidrio.

Limpieza de los filtros. Los filtros nuevos se lavan pasándoles agua con una manguera de goma conectada a un grifo. Los filtros usados se hierven en solución de bicarbonato sódico al 5 por ciento; se frota la superficie con un cepillo y se hace pasar por ellos suficiente cantidad de agua para arrastrar todo el álcali. Secar en estufa caliente.

Esterilizar los filtros y todo el dispositivo de filtración en el autoclave a 15 libras de presión (121° C.) durante 15 minutos.

Prueba de la capacidad de retención de los filtros. Se filtra una suspensión de un organismo pequeño (generalmente un cultivo de 24 horas de *Serratia marcescens)*; se pasan muestras del filtrado a caldo de cultivo y se incuban. Si los organismos no se desarrollan después de 48 horas, es prueba de que el filtro no tiene escapes. Al hacer esta prueba la suspensión de bacterias utilizada debe contener 100 millones de organismos por c.c. y deben pasarse al nuevo caldo de cultivo cantidades relativamente grandes del filtrado.

Preparación del material para filtrar. Antes de la filtración es aconsejable separar los materiales más gruesos tales como células de la sangre o de los tejidos, precipitados, filamentos de fibrina y otras partículas grandes, incluyendo algunas bacterias, por centrifugación o filtración a través de papel.

Ultrafiltración. Los ultrafiltros son membranas delgadas de materiales porosos que se usan mucho para estudiar los virus ultramicroscópicos. La infecciosidad de los filtrados después del paso por filtros de calibres diferentes se usan para calcular el tamaño de un virus desconocido.

Casi todas las variedades utilizables de ultrafiltros son modificaciones de la serie de filtros de membrana de Bechhold formados en su mayor parte de colodión (nitrocelulosa). Tales filtros son difíciles de preparar con uniformidad. Elford (1931) y Krueger y Ritter (1929) han preparado una serie de membranas de colodión graduadas convenientes para el trabajo bacteriológico y para el estudio de los virus filtrables.

Ultrafiltros de Elford. Las instrucciones dadas por Elford (1931) para preparar "membranas de gradocol" pueden resumirse como sigue:

Se prepara una solución de colodión, consistente en celoidina, alcohol amílico y una mezcla de alcohol-éter. Esta solución se vierte en una celda de vidrio, se deja en reposo a la temperatura constante de la habitación y se lava repetidamente con agua destilada. El tamaño de los poros de la membrana se puede aumentar por adición de pequeños volúmenes de agua; la adición de ácido acético a la solución de colodión original hace la membrana menos porosa.

Para los detalles, que deben observarse con toda meticulosidad, acerca de preparación y uso de estas membranas, el lector debe consultar el artículo de Elford (1931).

Ultrafiltros graduados de Krueger y Ritter. Estos filtros se preparan disponiendo membranas de colodión acético sobre filtros de papel.

BIBLIOGRAFIA

Bechhold, H. *Ultrafiltration and Electro-ultrafiltration, Colloid Chemistry*, ed. by J. Alexander, New York, 1926, 1:820.
—— *Ztschr. f. physik. Chem.*, 1907, 60:257; 1908, 64:328.
Elford, W. J. *J. Path. & Bacteriol.*, 1931, 34:505.
Krueger, A. P., and Ritter, R. C. *J. Gen. Physiol.*, 1929, 13:409.

CAPITULO LXXV

TECNICAS DE SEROLOGIA E INMUNOLOGIA

Al referirnos, en general, a la inmunidad en la Parte II de este libro, indicamos que la Inmunología difiere de la Serología en que la primera está relacionada con todos los factores que intervienen en la resistencia, mientras la última se limita a estudiar los anticuerpos en los sueros. El único método de medir la inmunidad en un animal es determinar si resiste o sucumbe a dosis desencadenantes de microorganismos o productos tóxicos. Sin embargo, son grandes las variaciones de susceptibilidad de los diferentes animales de la misma especie, aun cuando sean iguales todas las condiciones, como peso, edad y dosis empleada. En cualquier serie se encontrarán a veces un animal que sobrevivirá a dosis grandes y otros que sucumbirán con dosis pequeñas. Debido a tales variaciones, inherentes a todos los experimentos con animales, la mayor parte de los investigadores está adoptando, como dosis tipo, la cantidad requerida para matar al 50 por ciento de los animales inoculados. Tal dosis se denomina $D.L._{50}$; está reemplazando gradualmente la D.L.M. o dosis letal mínima como dosis desencadenante usada en las pruebas de inmunidad. Así, por ejemplo, en la prueba del Instituto Nacional de Sanidad de EE. UU. para potencia de la vacuna antirrábica se especifica que la $D.L._{50}$ para una serie de animales inmunizados será por lo menos 1 500 veces mayor que la $D.L._{50}$ determinada en animales no inmunizados.

Determinación de la $D. L._{50}$. Los animales destinados a la prueba, seleccionados por tamaño, peso, edad, etc., se dividen en grupos de números iguales. Los animales de cada grupo reciben la misma cantidad de material tóxico o infeccioso; las dosis para cada grupo se gradúan de modo que más de la mitad de los animales mueran por la dosis máxima y más de la mitad sobrevivan a la dosis mínima. Se registra la mortalidad para cada grupo y la $D. L._{50}$ se calcula con los datos obtenidos de todos los animales que fueron inyectados.

Se han propuesto varios métodos matemáticos para determinar la $D. L._{50}$, pero, por desgracia, muchos de ellos exigen cálculos laboriosos (Pittman y Lieberman, 1948). Wilson y Worcester (1943) propusieron un método que supone pocos cálculos matemáticos, pero que requiere el uso de tablas.

El método más fácil para calcular la $D. L._{50}$ es el de Reed y Muench (1938). El método ha sido objeto de crítica porque no permite la determinación del error y, como han demostrado Pittman y Lieberman (1948), hay discrepancias entre los valores obtenidos por los cálculos de Reed-Muench y los obtenidos por el método de Probit, que es mejor. A despecho de las

Dosis (c.c.)	Muertes	Supervivencias	Total	Muertes (por ciento)
0,005	1	7	8	12,5
0,010	1	7	8	12,5
0,015	3	5	8	37,5
0,020	2	6	8	25,0
0,025	4	4	8	50,0
0,030	6	2	8	75,0
0,035	5	3	8	62,5

objeciones, el método de Reed-Muench, por su simplicidad, ha sido ampliamente usado por los investigadores interesados en medir la inmunidad.

El método de cálculo de Reed-Muench se puede ilustrar por el ejemplo hipotético del final de la página anterior.

Con los datos anteriores se dispone una tabla de muertes y supervivencias acumulativas: las muertes suman hacia abajo y las supervivencias hacia arriba. Así, se supone que el animal que murió por inoculación de 0,005 c.c. también habría muerto por una inyección de 0,010, 0,015 o cualquiera otra dosis mayor; por lo tanto, este animal se añade a todos los de los últimos grupos. Igualmente se supone que los tres animales que sobrevivieron a la dosis de 0,035 c.c. sobrevivirán también a dosis más bajas, lo cual hace que puedan ser añadidos al número de supervivientes de las dosis más bajas. La tabla reconstruída es como sigue:

Dosis (c.c.)	Muertes acumulativas	Supervivencias acumulativas	Total	Casos mortales (por ciento)
0,005	1	34	35	2,8
0,010	2	27	29	6,9
0,015	5	20	25	20,0
0,020	7	15	22	31,8
0,025	11	9	20	55,0
0,030	17	5	22	77,2
0,035	22	3	25	87,8

Si los datos acumulativos se representan como dos curvas en la misma gráfica, considerando las dosis como abscisas y las muertes acumulativas como ordenadas, y se representa la curva de muertes y la de supervivencias acumulativas, la D. L.$_{50}$ se puede leer en la gráfica dejando caer una perpendicular desde el punto en que se cruzan las dos curvas.

La D. L.$_{50}$ se puede calcular también por los casos mortales interpolando el punto que corresponde a 50 por ciento. Así, por ejemplo, la dosis de 0,020 c.c. resultó en un porcentaje de mortalidad de 31,8; la inmediata superior, de 0,025 c.c., causó el 55 por ciento de muertes. La dosis de intervalo es de 0,005, así que:

$$\text{D. L.}_{50} = 0{,}020 + 0{,}005\left(\frac{50.0 - 31{,}8}{55{,}0 - 31{,}8}\right) = 0{,}0233 \text{ c.c.}$$

METODOS SEROLOGICOS

Anticuerpos neutralizantes. De todos los métodos serológicos usados para determinar la cantidad de anticuerpos en un suero animal, la prueba de los anticuerpos neutralizantes es la que da resultados que mejor corresponden al verdadero estado de inmunidad. La técnica de neutralización ha sido adaptada para determinar títulos de anticuerpo correspondientes a muchos microorganismos, pero es particularmente útil en la estimación de los anticuerpos para virus. Los procedimientos siguientes son los recomendados por la Comisión de Virus Neurótropos de la Junta Epidemiológica del Ejército de EE. UU. (1942) para pruebas de neutralización en la encéfalomielitis equina del Este y del Oeste y la encefalitis de San Luis. Se presentan aquí como ejemplo de la técnica a seguir.

El antígeno consiste esencialmente en virus obtenidos de cerebros de ratones infectados. Los cerebros se trituran con arena o alundo; cada gramo de tejido triturado se suspende en 10 c.c. de solución salina que contiene 10 por ciento de suero de conejo. La suspensión se homogeiniza nuevamente en una mezcladora Waring y se centrifuga a 2 000 r.p.m. durante 10 minutos. El líquido que sobrenada, considerado como virus diluído al 1:10, se congela rápidamente en una mezcla de alcohol-hielo seco y se guarda congelado hasta inmediatamente antes del uso.

Cuando todo está listo para la prueba, el antígeno congelado se deshiela rápidamente y se preparan diluciones al 1:50, 1:500, etc., hasta 1:500 000 000 o más, usando solución salina que conten-

ga el 10 por ciento de suero de conejo. Es importante usar una pipeta distinta para preparar cada dilución. Debe conocerse de antemano la potencia aproximada del virus, pero en cada caso debe prepararse paralelamente una serie testigo con el suero problema que se va a ensayar. Así, por ejemplo, se añaden 0,2 c.c. de cada dilución de virus a dos series de tubos, una conteniendo 0,2 c.c. del suero "problema" sin diluir y la otra serie conteniendo 0,2 c.c. de suero de conejo al 10 por ciento en solución salina. Las diluciones del virus que se van a utilizar dependen del resultado de la titulación preliminar; así, si el virus tenía originalmente una D.L.$_{50}$ de 10^{-7}, se recomienda que la dilución del virus de la serie testigo sea 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7} y 10^{-8} y para el suero problema 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5} y 10^{-6}.

Después se incuban las mezclas de suero-virus y virus testigo durante dos horas en un baño de María a 37° C. y luego se pasan a la nevera hasta que vayan a ser inoculadas. Cada ratón se inocula intracerebralmente con una dosis de 0,03 c.c.; los animales se dividen en grupos de cinco. Todas las muertes que ocurran dentro de las 24 horas se consideran como traumáticas y las que sucedan dentro de 72 horas como no específicas.

En el caso del virus de la encéfalomielitis equina se hacen observaciones durante 10 días; durante 14 días en los animales inoculados con virus de la encefalitis de San Luis.

El siguiente protocolo sirve de ejemplo que ilustra el cálculo:

		Cada grupo			Series acumulativas			
Dosis	Log de la dil.	Muertes	Supervivientes	Total	Muertes	Supervivientes	Total	Muertes (por ciento)
			Ratones testigos					
10^{-6}	6,0	5	0	5	12	0	12	100
10^{-7}	7,0	4	1	5	7	1	8	87,5
10^{-8}	8,0	3	2	5	3	3	6	50,0
10^{-9}	9,0	0	5	5	0	8	8	0,0
			Suero problema					
10^{-4}	4,0	5	0	5	15	0	15	100
10^{-5}	5,0	5	0	5	10	0	10	100
10^{-6}	6,0	3	2	5	5	2	7	71,4
10^{-7}	7,0	2	3	5	2	5	7	28,6

Como las diluciones son logarítmicas, los títulos se expresan en logaritmos de la dilución. La D.L.$_{50}$ de los testigos = 10^{-8} (log = 8,0).

$$\text{La D. L.}_{50} \text{ de la mezcla de suero} = 6{,}0 + \left(\frac{71{,}4 - 50}{71{,}4 - 28{,}6}\right) = 6{,}5$$

Substituyendo por análogos:

D.L.$_{50}$ para ratones (testigos) = 1:100 000 000
D.L.$_{50}$ para ratones (suero) = 1:3 160 000

El índice de neutralización o relación de D.L.$_{50}$ testigo a D.L.$_{50}$ suero es 31,6 ó 32. Según el criterio establecido por la Junta Epidemiológica del Ejército, un resultado de neutralización de este tipo debe ser considerado equívoco, ya que el Consejo recomienda que índices de neutralización menores de 9 sean considerados negativos, de 10 a 49 como equívocos y de 50 o más como positivos. Si se obtiene un resultado equívoco debe repetirse la determinación.

Aglutinación. La titulación de las aglutininas es una de las pruebas de más fácil ejecución y de mayor utilidad clínica entre todas las empleadas en el estudio de las enfermedades infecciosas. Como se señaló en el Capítulo XIV, la reacción tiene lugar entre los anticuerpos del suero y los antígenos de superficie de las células bacterianas; por lo tanto, un título alto de aglutininas en el suero de un paciente no siempre indica un alto grado de inmunidad. Sin embargo, en infecciones como fie-

bre tifoidea, brucelosis, tularemia y otras, los resultados de las pruebas de aglutinación han guardado relación con el curso clínico en tantos casos, que su significación ha sido establecida empíricamente.

Se usan tres tipos generales de técnica de aglutinación: 1) la aglutinación rápida en portaobjetos: 2) la microscópica; 3) la macroscópica.

La técnica de *aglutinación en portaobjetos* se usa para identificar rápidamente un organismo desconocido y se utiliza extensamente para la identificación de miembros del género *Salmonella.* Se usa un suero preparado que contiene anticuerpos específicos. La técnica es como sigue:

1. Colocar sobre un porta una gota del antisuero diluido al 1:50.
2. Colocar dos gotas de solución salina sobre el mismo porta.
3. Emulsionar las bacterias de una colonia o de un cultivo inclinado en una de las gotas de solución salina; pasar una asa a la segunda gota de solución salina y mezclar. Pasar una asa a la gota de suero y mezclar. Examinar inmediatamente al microscopio con poco aumento. Si la emulsión testigo en la gota de solución salina está libre de grumos y la emulsión en el suero presenta aglutinación, la prueba es positiva.

La prueba de la *aglutinación microscópica* sólo debe utilizarse cuando se dispone de muy pequeñas cantidades de suero o sangre seca, ya que el método macroscópico es más seguro. Aunque esta técnica se puede aplicar para la rápida identificación de los microorganismos, usando antisueros conocidos y microorganismos desconocidos, suele emplearse para titular los anticuerpos de un suero desconocido.

Las diluciones del antisuero en solución salina y los antígenos se preparan según se describe en la técnica de aglutinación macroscópica. Una asa de cada dilución de suero se mezcla con una asa del antígeno sobre un cubreobjetos y después de mojar sus bordes con vaselina se vierte sobre la depresión de un portaobjetos excavado y se incuba. Es necesario diponer un testigo que contenga una asa de solución salina y otra de antígeno. Se examinan las gotas pendientes a pequeño aumento del microscopio y los títulos se registran como el doble de la mayor dilución que causa aglutinación.

El método tiene ventajas sobre la técnica macroscópica por cuanto: 1) requiere cantidades mínimas de suero y antígeno; 2) los pequeños grumos se descubren fácilmente al microscopio; 3) puede observarse el proceso de la aglutinación. El uso de la gota pendiente hace más lenta la evaporación y permite una incubación más prolongada que la técnica de aglutinación sobre portaobjetos. Sin embargo, como técnica de titulación de anticuerpos no es tan conveniente como el método macroscópico porque la medición por asas no es tan exacta como la que se hace con pipeta.

El método de la *aglutinación macroscópica* se usa constantemente en el laboratorio clínico para medir el contenido en anticuerpos del suero de un paciente. De ordinario, los antígenos se preparan de un cultivo de bacterias en caldo o son arrastradas con solución salina del crecimiento en superficie de un cultivo en medios inclinados o en frascos de Kolle. Los organismos se matan por calentamiento a 60° C. durante una hora y se conservan en formol al 0,5 por ciento. Se preparan y conservan grandes cantidades de antígeno para el uso diario. Dentro de ciertos límites, la suspensión del antígeno debe ser valorada por un método nefelométrico; suelen ser adecuadas las suspensiones que contienen 500 000 000 de bacterias por c.c.

1. Se colocan en una gradilla diez tubos serológicos y a cada uno de ellos se le añade 0,5 c.c. de solución salina, excepto al primero que recibe 0,9 c.c. de dicha solución.
2. Se añade el primer tubo 0,1 c.c. de suero del paciente (dilución del suero de 1:10) y se mezcla aspirando y soplando el líquido dentro del tubo por medio de una pipeta. La mezcla debe ser succionada tres o cuatro veces y al soplar se debe evitar que el aire salga por el extremo de la pipeta y forme burbujas.
3. De la mezcla del primer tubo se toma 0,5 c.c. (dejando 0,5 c.c. de la dilución de suero al 1:10) y se pasa al segundo tubo, que contiene 0,5 c.c. de solución salina. El segundo tubo, que ahora contiene 1,0 c.c. de suero al 1:20, se mezcla como se hizo para el primer tubo; se toma 0,5 c.c. y se pasa al tercero.
4. Las mezclas y transferencias de 0,5 c.c. se van repitiendo hasta el tubo noveno, del cual se extrae 0,5 c.c. que se tira. El tubo décimo contiene 0,5 c.c. de solución salina, sirve de testigo y no recibe material de los tubos anteriores.

5. Se añade a cada uno de los diez tubos 0,5 c.c. de suspensión del antígeno; se agitan y se colocan en un baño de María.

El contenido de cada tubo se indica en la tabla adjunta.

	Antisuero problema		Antígeno conocido		Volumen total	Dilución final del suero
Tubo	Cantidad	Dilución	Sol. salina	Cantidad		
1	0,5 c.c.	1:10	—	0,5 c.c.	1,0	1:20
2	0,5 c.c.	1:20	—	0,5 c.c.	1,0	1:40
3	0,5 c.c.	1:40	—	0,5 c.c.	1,0	1:80
4	0,5 c.c.	1:80	—	0,5 c.c.	1,0	1:160
5	0,5 c.c.	1:160	—	0,5 c.c.	1,0	1:320
6	0,5 c.c.	1:320	—	0,5 c.c.	1,0	1:640
7	0,5 c.c.	1:640	—	0,5 c.c.	1,0	1:1280
8	0,5 c.c.	1:1280	—	0,5 c.c.	1,0	1:2560
9	0,5 c.c.	1:2560	—	0,5 c.c.	1,0	1:5120
10	—	—	0,5	0,5 c.c.	1,0	—

La temperatura del baño es opcional, prefiriendo algunos la de 52° C. No obstante, un baño de María a 37° C. da buen resultado si los tubos se dejan dentro de él toda la noche.

Los tubos deben examinarse para comprobar la presencia de grumos al cabo de una hora y volverse a poner en el baño. A la mañana siguiente debe sacarse la gradilla con cuidado para examinar el líquido antes de agitarlo. En los tubos con aglutinación completa, éste debe ser claro; en el tubo testigo, turbio. Después se agitan los tubos y se examinan para buscar grumos gruesos.

Deben examinarse todos los tubos, porque en ciertas condiciones la existencia de una prozona manifiesta o de una zona proaglutinoide (véase página 184) puede ser causa de que un suero sea considerado negativo si la observación se limita a los primeros tubos de la serie.

La técnica de centrifugación ha sido indicada brevemente en la página 183; no será descrita aquí porque algunos factores, como tiempo y velocidad de centrifugación, dependen del antígeno empleado.

Absorción de aglutininas. En la página 187 se trató en forma general de la absorción de aglutininas. Las cantidades de suero y antígeno utilizadas para la absorción dependen de cada suero particular y de la naturaleza del antígeno. La técnica que indicamos a continuación constituye una pauta general que deberá modificarse por circunstancias especiales.

1. Hacer una suspensión espesa de los organismos absorbentes arrastrando con solución salina un cultivo en agar inclinado.
2. Centrifugar los organismos a 2 000 r.p.m. en un tubo graduado hasta que el volumen de los organismos sedimentados sea constante.
3. Separar con pipeta el líquido que sobrenada.
4. A una parte de masa bacteriana añadir nueve partes del suero diluído a 1-10. Hacer una suspensión de los organismos en el suero diluído y colocar en el baño de María durante dos horas y después en la nevera toda la noche.
5. Centrifugar los organismos y separar el líquido que sobrenade.
6. Llevar a cabo la prueba de aglutinación microscópica, usando el suero absorbido. Si la absorción ha sido completa habrán desaparecido todas las aglutininas para el antígeno absorbente.

Precipitinorreacción. Como la aglutinación, la reacción de precipitación sirve para descubrir antígenos desconocidos utilizando antisueros conocidos o, a la inversa, para descubrir anticuerpos usando un antígeno conocido. El primer procedimien-

to tiene especial valor en medicina forense, particularmente para identificación de una especie animal por el examen de una mancha de sangre, usando como antígeno la parte clara del extracto líquido. Los sueros conocidos se preparan inyectando a conejos sueros de diversos animales; el investigador suele disponer de una serie de sueros de alto título, antihumano, antiporcino, antiequino y otros.

Como hay reacciones cruzadas entre los sueros de diversos animales y el propósito de la prueba es la *identificación* y no la *titulación*, se diluye el antígeno problema conservando constante la concentración del suero conocido. Al objeto de economizar suero suele utilizarse la prueba del *anillo* o método de la *interfase*.

Se usan tubos de ensayo de pequeño diámetro interior (3 mm); en el fondo de cada tubo se coloca con una pipeta capilar 0,1 c.c. del suero conocido, sin diluir o ligeramente diluido.

En tubos serológicos ordinarios se preparan diversas diluciones del antígeno problema en solución salina, desde 1-10 a 1-10 000 o más altas; sobre el suero que hay en cada tubo de precipitación se deja deslizar con cuidado 0,1 c.c. de la dilución correspondiente. El antígeno *no debe mezclarse* con el suero y la superficie de contacto debe ser claramente visible. Se disponen dos testigos, uno con antígeno depositado sobre la solución salina, el otro con solución salina depositada sobre el suero.

Se dejan los tubos a la temperatura de la habitación durante dos horas y luego se examinan buscando la formación de precipitado en la superficie de contacto.

Para identificar manchas de sangre se dispone una serie similar usando antisueros que contienen anticuerpos contra todos los animales sospechosos de ser los causantes de la mancha. Es muy probable que todos los sueros reaccionen con las diluciones relativamente bajas de antígeno; la identificación específica se logrará observando el suero que precipita con la *dilución mayor de antígeno*.

La titulación de anticuerpos precipitantes o precipitinas en sueros de conejo se expone con detalle en la página 175.

Opsoninas. La determinación de las opsoninas no suele practicarse corrientemente en los laboratorios, ya que sólo se puede efectuar usando un equipo especial y en condiciones cuidadosamente establecidas. Si interesa llevar a cabo tal estudio, el experimentador debe consultar la publicación de Ward y Enders (1933).

El *índice opsonocitofágico* se ha usado extensamente en los estudios de brucelosis.

La técnica de Huddleson (1939) es la más empleada. La sangre del paciente (5 c.c. de sangre para 0,1 c.c. de una solución estéril de citrato sódico al 20 por ciento) se coloca en un tubo y se invierte suavemente para que resulte homogénea.

El antígeno consiste en una suspensión salina de una cepa lisa de una especie de *Brucella*. Los microorganismos se cultivan durante 48 horas en superficie inclinada de infusión de hígado; se recogen en suspensión salina y ésta se valora para que contenga aproximadamente 3 mil millones de gérmenes por c.c.

Se añade 0,1 c.c. de la suspensión de antígeno a 0,1 c.c. de sangre citratada en un tubo de Wassermann; la mezcla se coloca en baño de María a 37° C. durante 30 minutos. El tubo se invierte entonces una vez y se hacen frotis sobre portaobjetos limpios, se secan rápidamente frente a un ventilador eléctrico y se tiñen por el método de Giemsa.

Se cuentan 25 leucocitos polinucleares consecutivos y se clasifican en grupos según el número de microorganismos que hay dentro de cada célula: ninguno, 1-20, 20-40 y 40 +. Un resultado típico podría ser 10-8-4-3, que significaría que 10 células no contenían organismos, 8 tenían entre 1 y 20 organismos y así sucesivamente.

El índice opsonocitofágico no debe ser confundido con los índices opsónico o fagocítico, ya que los últimos emplean leucocitos obtenidos de la capa superficial de sangre centrifugada de animales normales, mientras que aquél emplea las células y el suero de la sangre del paciente.

Prueba de la inhibición de la aglutinación de Hirst. Esta prueba, descrita primero por Hirst (1941), ha resultado útil para identificar ciertos virus como los de

influenza A y B, paperas y otros. La técnica, que puede hallarse en las publicaciones de Hirst (1941), Salk (1944) y otros, no será expuesta en detalle, pero indicaremos los principios generales de la prueba porque difiere radicalmente de las otras reacciones serológicas para investigación de anticuerpos.

La prueba se basa en un hecho: los glóbulos rojos lavados de pollos normales (más recientemente se han usado glóbulos rojos humanos tipo O) son aglutinados por el líquido corioalantoideo de los huevos de gallina infectados por virus. Además, los anticuerpos en los sueros de pacientes y animales infectados o inmunizados tienen la propiedad de inhibir específicamente la aglutinación de los glóbulos rojos por los virus homólogos. La aglutinación de los glóbulos rojos no es específica y puede producirse por los virus A y B de la influeza y otros. Sin embargo, la inhibición resulta específica por cuanto los anticuerpos antiinfluenza A, por ejemplo, inhibirán la aglutinación de los glóbulos rojos por virus de influenza A, pero no impedirán la aglutinación producida por el virus de influenza B.

Fijación del complemento. La reacción de fijación del complemento probablemente tiene mayor utilidad que cualquiera otra de las pruebas para determinar anticuerpos en sueros de enfermos. La lectura de la reacción es fácil, ya que la presencia o ausencia de hemólisis proporciona un punto final muy neto y la prueba se puede llevar a cabo con antígenos en solución o en suspensión siempre que tales antígenos no posean propiedades hemolíticas o anticomplementarias. La técnica de la fijación del complemento, sin embargo, resulta complicada por el gran número de agentes biológicos que requiere, todos los cuales deben ser vigilados con cuidado extremo.

Los principios generales de la fijación del complemento han sido expuestos en el Capítulo XIV (página 193), así que aquí nos limitaremos a describir los métodos de titulación y la disposición de los testigos necesarios. Los diversos investigadores usan diferentes métodos de titulación utilizando suspensiones de glóbulos de carnero de concentraciones diferentes, tiempos diferentes de incubación, volúmenes diferentes de reactivos, diferentes métodos de titulación de hemolisina y complemento, etc. La técnica que indicamos a continuación es una de las muchas que pueden emplearse.

Titulación de los reactivos. Los *glóbulos rojos de carnero* se obtienen sangrando a una oveja normal y recibiendo directamente la sangre en un volumen igual de solución de Alsever modificada, en la cual se pueden conservar durante un mes o más sin que se produzca hemólisis. La solución original de Alsever, que contenía 2,05 por ciento de glucosa, 0,8 por ciento de citrato y 0,42 por ciento de cloruro sódico, ha sido modificada añadiéndole 0,055 por ciento de ácido cítrico, por Bukantz y colaboradores (1946). Antes del uso, se lavan los hematíes varias veces empleando solución salina con un tampón, se separan por centrifugación y se vuelven a suspender en solución salina suficiente para obtener una suspensión final al 2 por ciento. Según la técnica se emplean suspensiones desde el 1,5 al 5 por ciento.

La *hemolisina* o *amboceptor* se prepara inyectando cinco o seis veces a un conejo, por vía endovenosa, suspensión al 10 por ciento de glóbulos rojos lavados de carnero. Las inyecciones suelen darse con intervalos de cinco días y los conejos se sangran nueve o diez días después de la última inyección. El suero se mezcla con un volumen igual de glicerina neutra y se puede conservar durante años en la nevera. La titulación de la hemolisina se describe más abajo.

El *complemento* se obtiene sangrando por punción cardíaca tres o cuatro cobayos normales y recogiendo sus sueros. El complemento es poco estable y no se puede usar después de tres días a menos que se conserve congelado. Algunos cobayos fijan el complemento con el antígeno ordinario de Wassermann de corazón de buey, por lo cual es aconsejable probar el suero de cada cobayo y eliminar aquel que reaccione positivamente. Esta prueba no es necesaria si se reúnen los sueros de gran número de cobayos; no hay fijación inespecífica con el antígeno de cardiolipina más reciente (Harris y Portnoy, 1944).

Las *titulaciones de hemolisina y complemento* resultan complicadas por el hecho de que los dos guardan una relación recíproca al producir hemólisis. Así, en el método de Eagle el complemento se usa siempre en dilución al 1-10, y se efectúan titulaciones diariamente, usando diferentes cantidades de hemolisina, para determinar la cantidad de la última que ha de usarse en la reacción. Sin embargo, el procedimiento inverso, empleando una cantidad constante de hemolisina y titulando diariamente el complemento, es el que se usa más comúnmente y será descrito aquí. Deberá conocerse el título de hemolisina y esto sólo se puede lograr disponiendo diversas diluciones de hemolisina con cantidades constantes de complemento.

La menor cantidad de hemolisina que produce hemólisis completa se dice que contiene *una unidad*. La dilución de la hemolisina deberá ser mayor que la que produce aglutinación de los glóbulos de carnero.

TITULACIÓN DE LA HEMOLISINA USANDO CANTIDADES CONSTANTES DE COMPLEMENTO

TUBO Nº	HEMOLISINA ANTICARNERO DIL. 1-800	COMPLEMENTO DIL. 1-10	GLÓBULOS ROJOS DE CARNERO AL 2%	SOL. SALINA
	c.c.	c.c.	c.c.	c.c.
1	0,20	0,2	0,2	0,40
2	0,18	0,2	0,2	0,42
3	0,16	0,2	0,2	0,44
4	0,14	0,2	0,2	0,46
5	0,12	0,2	0,2	0,48
6	0,10	0,2	0,2	0,50
7	0,08	0,2	0,2	0,52
8	0,06	0,2	0,2	0,54
9	0,04	0,2	0,2	0,56
10	0,02	0,2	0,2	0,58

Incubar durante 30 minutos en baño de María a 37° C.

Después de determinar la unidad, la hemolisina se diluye para todas las pruebas subsiguientes de modo que *dos unidades* estén contenidas en 0,2 c.c. Los *glóbulos rojos sensibilizados* (al 2 por ciento) se preparan añadiendo un volumen igual de hemolisina diluída. La dosis de glóbulos rojos sensibilizados usada como indicador en la prueba final, es de 0,4 c.c. (0,2 c.c. de hemolisina y 0,2 c.c. de suspensión de glóbulos rojos al 2 por ciento).

Una vez establecida la unidad de hemolisina, el título del complemento se determina diariamente por adición de cantidades variables de complemento diluído a cantidades constantes de los glóbulos rojos sensibilizados descritas arriba.

TITULACIÓN DEL COMPLEMENTO

TUBO Nº	COMPLEMENTO DIL. 1-10	GLÓBULOS SENSIBILIZADOS	SOL. SALINA
	c.c.	c.c.	c.c.
1	0,20	0,40	0,40
2	0,18	0,40	0,42
3	0,16	0,40	0,44
4	0,14	0,40	0,46
5	0,12	0,40	0,48
6	0,10	0,40	0,50
7	0,08	0,40	0,52
8	0,06	0,40	0,54
9	0,04	0,40	0,56
10	0,02	0,40	0,58

La menor cantidad de complemento que causa hemólisis completa contiene *una unidad* de complemento. Kolmer (1944) define esta unidad como la *unidad exacta* y toma la cantidad inmediata superior como la *unidad completa*. En la reacción usa dos unidades completas.

Kolmer también aconseja titular el complemento en presencia del antígeno que se va a usar en la prueba final.

Como el complemento es la substancia que puede entrar en combinación tanto con el sistema antígeno-anticuerpo como con el sistema hemolítico, su titulación es la más delicada e importante de la reacción de fijación del complemento. Las medidas fotoeléctricas precisas del porcentaje de hemólisis producida por distintas cantidades de complemento han demostrado que la cantidad de complemento que produce el 50 por ciento de hemólisis proporciona un punto final mucho más exacto, puesto que algunos glóbulos resisten a la hemólisis aun en concentraciones relativamente altas de complemento. En las técnicas de fijación del complemento que requieren titulaciones muy exactas de reactivos debe emplearse la unidad 50 por ciento. La determinación requiere un espectrofotómetro y una técnica especial que ha sido descrita por Kent y colaboradores (1946). Para la reacción de fijación del complemento se usan tres unidades 50 por ciento.

El *antígeno* para la reacción debe: 1) no ser anticomplementario; 2) no ser hemolítico; 3) poseer suficiente poder de combinación.

PRUEBA PARA DETERMINAR EL PODER ANTICOMPLEMENTARIO DEL ANTÍGENO

TUBO Nº	ANTÍGENO	COMPLEMENTO	SOLUCIÓN SALINA	FIJACIÓN	GLÓBULOS SENSIBILIZADOS	INCUBACIÓN
	c.c.	c.c.	c.c.		c.c.	
1	0,2 (1-5)	0,2	0,2	a la nevera	0,4	30 min. en
2	0,2 (1-10)	0,2	0,2	3 horas	0,4	baño de
3	0,2 (1-20)	0,2	0,2	o	0,4	María a
4	0,2 (1-40)	0,2	0,2	30 min. en baño	0,4	37° C.
5	0,2 (1-80)	0,2	0,2	de María	0,4	
6	0,2 (1-160)	0,2	0,2	a 37° C.	0,4	

Como no hay anticuerpos, cualquier inhibición de la hemólisis resulta de la actividad anticomplementaria del antígeno. Para la reacción, el antígeno no debe emplearse en concentración mayor de un tercio de la dosis anticomplementaria.

PRUEBA PARA LA ACTIVIDAD HEMOLÍTICA DEL ANTÍGENO

TUBO Nº	ANTÍGENO	GLÓBULOS DE CARNERO	SOLUCIÓN SALINA	INCUBACIÓN
	c.c.	c.c.	c.c.	
1	0,2 (Sin dil.)	0,2	0,6	30 min. en baño de
2	0,2 (1-5)	0,2	0,6	María a 37° C.
3	0,2 (1-10)	0,2	0,6	

La dosis de antígeno usada en la prueba final debe ser menor que la hemolítica.

PRUEBA PARA EL PODER DE UNIÓN DEL ANTÍGENO

TUBO Nº	ANTÍGENO	ANTISUERO	COMPLEMENTO	FIJACIÓN	GLÓBULOS SENSIBILIZADOS	INCUBACIÓN
	c.c.	c.c.	c.c.		c.c.	
1	0,2 (1-5)	0,2	0,2	3 horas en la	0,4	30 minutos
2	0,2 (1-10)	0,2	0,2	nevera o 30	0,4	en baño de
3	0,2 (1-20)	0,2	0,2	min. en baño	0,4	María a
4	0,2 (1-40)	0,2	0,2	de María	0,4	37° C.
5	0,2 (1-80)	0,2	0,2		0,4	
6	0,2 (1-160)	0,2	0,2		0,4	
7	0,2 (1-320)	0,2	0,2		0,4	
8	0,2 (1-640)	0,2	0,2		0,4	
9	0,2 (1-5)	—	0,2		0,4	
10	——	0,2	0,2		0,4	

Los resultados de la prueba indican la menor cantidad de antígenos que causa fijación con el anticuerpo específico. El tubo N° 9 sirve de comprobación del título anticomplementario del antígeno; el tubo N° 10 es el testigo para el título anticomplementario del suero.

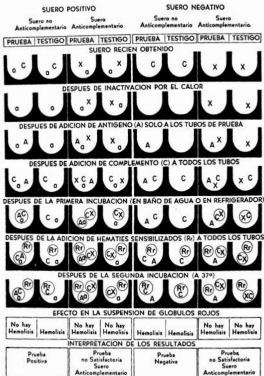


FIG. 251. ESQUEMA DE REACCIONES DE FIJACIÓN DEL COMPLEMENTO CON TESTIGOS.

El *suero del paciente* debe también comprobarse porque puede poseer propiedades anticomplementarias. Por lo tanto, es *obligado* disponer de un testigo de cada suero para este fin. El testigo, el cual lleva todos los reactivos *excepto el antígeno*, se describe más abajo en la reacción de fijación del complemento.

La reacción de fijación del complemento. En general, se practican dos tipos de reacciones. Como método cualitativo en la reacción de fijación del complemento para la sífilis se disponen solamente dos tubos: uno para la reacción de los anticuerpos, el otro como testigo del poder anticomplementario del suero. El tubo testigo suele colocarse al frente de la hilera de una gradilla de doble fila con el tubo de reacción inmediatamente detrás de él. Toda inhibición de la hemólisis en el tubo frontal (testigo) invalida la prueba. Si el tubo del frente presenta hemólisis completa, la reacción es satisfactoria y la mezcla en el tubo de reacción se registra como negativa (hemólisis completa), 4+ (no hay hemólisis), o como 1+, 2+ ó 3+, según el grado de inhibición de la hemólisis.

La figura 251 representa un intento para ilustrar, paso a paso, el orden de sucesión en la reacción de fijación del complemento. Se han usado los siguientes símbolos: A—antígeno, a—anticuerpo, C—complemento, R—glóbulos rojos, r—hemolisinas, (Rr—glóbulos rojos sensibilizados) y X—factor anticomplementario. Se supone que todos los reactivos, excepto el suero problema, han sido titulados previamente.

La técnica se puede resumir como sigue:

1. Inactivar el suero del paciente por calentamiento durante 30 minutos en un baño de María a 56° C. Este paso es necesario para destruir la cantidad desconocida de complemento que existe en el suero del paciente.
2. Colocar 0,2 c.c. de suero en el tubo posterior (reacción) y 0,2 c.c. en el tubo frontal (testigo). (En algunas técnicas se ponen 0,4 c.c. en el tubo testigo.)
3. Añadir 0,2 c.c. de antígeno *solamente al tubo de atrás.*
4. Añadir 0,2 c.c. de solución salina *solamente al tubo frontal.*
5. Añadir 0,2 c.c. de complemento a *ambos tubos.*
6. Agitar y dejar en la nevera durante tres horas (técnica de refrigeración) o en baño de María a 37° C. durante 30 minutos.
7. Sacar de la nevera y colocar en baño de María a 37° C. durante 30 minutos, a menos que se haya utilizado la fijación en baño.
8. Añadir 0,4 c.c. de glóbulos sensibilizados a *ambos tubos.*
9. Agitar e incubar en el baño de María a 37° C. durante 30 minutos.
10. Retirar los tubos y leer los resultados.

La *reacción cuantitativa* se lleva a cabo usando el mismo dispositivo, pero disponiendo tubos separados que contengan 0,2 c.c. de diluciones progresivamente crecientes de suero. Debe también disponerse de un testigo para el poder anticomplementario del suero en las tres o cuatro dosis de mayor concentración del mismo.

BIBLIOGRAFIA

Bukantz, S. C., Rein, C. R., Kent, J. F., and Goodman, R. *J. Lab. & Clin. Med.*, 1946, 31:394.
Harris, A., and Portnoy, J. *Ven. Dis. Inform.*, 1944, 25:353.
Hirst, G. K. *Science*, 1941, 98:87.
Huddleson, I. F. *Brucellosis in Man and Animals*, The Commonwealth Fund. New York, 1939.
Kent, J. F., Bukantz, S. C., and Rein, C. R. *J. Immunol.*, 1946, 53:37.
Kolmer, J. A. *Clinical Diagnosis by Laboratory Examinations*, D. Appleton-Century Co., New York, 1944.
Pittman, M., and Lieberman, J. E. *Am. J. Pub. Health*, 1948, 38:15.
Reed, L. J., and Muench, H. *Am. J. Hyg.*, 1938, 27:493.
Salk, J. E. *J. Immunol.*, 1944, 49:87.
Ward, H. K., and Enders, J. F. *J. Exper. M.*, 1933, 57:527.
Wilson, E. B., and Worcester, J. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1943, 29:79, 114, 150, 257.

CAPITULO LXXVI

RECOLECCION Y EXAMEN DE MATERIAL OBTENIDO DE PACIENTES Y DE CADAVERES

EXAMEN DE LAS MUESTRAS

Las técnicas para el examen de muestras, como exudados, deyecciones y esputos, se indican en el texto en relación con las diferentes bacterias y las enfermedades que causan. En este capítulo nos referimos a los principios generales útiles para obtener y manipular los materiales destinados a examen bacteriológico.

Los materiales recogidos junto a la cama del paciente o en la sala de operaciones deben colocarse en tubos de ensayo estériles y enviarse inmediatamente al laboratorio. Si sólo se dispone de una cantidad limitada de material, éste debe recogerse sobre un hisopo de algodón estéril y enviarse al laboratorio en un tubo de ensayo estéril. Es importante que el cultivo se haga tan pronto como sea posible para evitar la desecación de la muestra.

Las jeringas que se utilizan para obtener exudados o sangre deben ser fáciles de esterilizar por calor seco o ebullición. El líquido cefalorraquídeo, el líquido de ascitis o los exudados pleurales deben recogerse directamente en tubos de centrífuga esterilizados, ya que es necesario concentrar los elementos celulares por centrifugación antes del examen.

Hemocultivos. El diagnóstico de bacteriemia sólo puede hacerse durante la vida por hemocultivo. Se han recomendado muchas técnicas, pero nos limitaremos a indicar el procedimiento que mejor resultado ha dado en nuestro laboratorio.

Además de la jeringa y aguja estériles, habrá junto a la cama un pequeño frasco estéril, tapado con algodón, que contenga 4 c.c. de solución de citrato sódico al 2,5 por ciento y una lámpara de alcohol para flamear.

La sangre se toma de preferencia de la vena mediana basílica del brazo; si es necesario se puede extraer de la safena interna cuando contornea el maléolo interno de la articulación del tobillo. La piel debe limpiarse con tintura de yodo; la sangre se extrae como para cualquier otro análisis. Se extraen unos 15 c.c. de sangre y se colocan en el frasco que contiene el citrato sódico después de flamear la boca del recipiente.

Los medios recomendados para el aislamiento de ciertos microorganismos de la sangre se han indicado en el texto. El procedimiento siguiente ha dado buen resultado en nuestro laboratorio para hemocultivos corrientes en busca de los organismos que con mayor frecuencia causan bacteriemias.

Se funden y enfrían hasta unos 40° C. cuatro tubos que contengan aproximadamente 15 c.c. de agar con caldo de carne, adicionado de un tampón y ajustado a pH 7,4. A cada tubo se le añaden 2 c.c. de sangre y después de mezclar se vierte el contenido en placas de Petri estériles. Las bocas de los tubos de ensayo deben flamearse antes de verter el contenido en las placas; deben tomarse todas las precauciones para evitar contaminaciones mientras se quitan y ponen los tapones de algodón. Dos placas deben ser incubadas en atmósfera que contenga el 10 por ciento de anhídrido carbónico. Si se quiere, se puede verter la mezcla en la parte superior de una placa de Spray y, después del endurecimiento, producir una atmósfera de anhídrido carbónico en la

forma descrita en la página 905. Con la sangre que sobra se siembra un matraz que contenga 100 c.c. de caldo glucosado.

Hemocultivos anaerobios. Estos cultivos se pueden hacer añadiendo 1 c.c. de sangre a tubos de agar-ascitis-glucosa y cubriéndolos después con vaselina estéril para producir las condiciones de anaerobiosis. También se pueden hacer cultivos en placas en la parte superior de las placas de Spray e incubarlas en condiciones anaerobias (véase página 906).

Examen de heces. Las heces humanas contienen un número enorme de bacterias de muchas variedades, la mayor parte de las cuales, en condiciones normales, son del grupo coli.

El examen bacteriológico de las heces suele efectuarse para aislar organismos patógenos pertenecientes a los géneros *Salmonella, Shigella* o *Vibrio.* Sobre la superficie de placas con medio de citrato desoxicolato sódico o de agar Salmonela-Shigela se siembra en estría una asa de heces. Si se sospecha la presencia de *V. comma* se usa una placa de agar-citrato-desoxicolato sódico de pH 8,4.

Después de 24 horas de incubación se toman con el asa las colonias que no fermentan la lactosa y se siembran en estría sobre la superficie de una placa de agar-eosina-azul de metileno y se incuba. Las colonias que no fermentan la lactosa se tocan con un alambre recto, se siembran en estría sobre la superficie inclinada de un tubo del medio de doble azúcar de Russell y después el alambre se introduce en la profundidad del medio. Al hacer la picadura es importante que la aguja no toque el fondo ni las paredes del tubo. Al día siguiente, los cultivos que presenten reacciones típicas de organismos patógenos se pasan a un tubo de agar común (para movilidad) y a tubos de caldo con carbohidratos para identificación.

Examen de lesiones genitales. Los chancros sospechosos de ser sifilíticos deben lavarse suavemente, para separar el pus superficial y tomar el exudado solamente de la base de la lesión. En caso necesario, se puede arañar suavemente ésta; la serosidad, mezclada con la menor cantidad posible de sangre, se examina al ultramicroscopio (iluminación en campo obscuro) para buscar *Treponema pallidum.*

Si se sospecha chancro blando, el material debe sembrarse inmediatamente en tubos de sangre estéril de conejo, inactivada y coagulada.

Exudados pleurales, peritoneales o pericárdicos. En el examen de estos líquidos es útil estudiar el sedimento obtenido por centrifugación. Un frotis de este sedimento se tiñe por el método de Gram y se toma nota de todos los tipos de bacterias y células. La relación de las bacterias con las células es de especial importancia. Los medios elegidos para la siembra se determinan según los tipos de organismos vistos en el frotis directo o por las bacterias que corresponden al estado clínico del paciente.

Si el examen morfológico es negativo para bacterias, debe hacerse un segundo frotis del sedimento, que se teñirá para buscar *Myco. tuberculosis.* Si no se encuentran bacterias, deben hacerse cultivos para *Myco. tuberculosis* e inocularse cobayos.

Pus. Como otros exudados, debe examinarse por la coloración de Gram, observando los tipos de organismos y células.

El pus debe sembrarse en estría sobre placas de agar-sangre, sembrando también tubos de extracto de carne y caldo-tioglicolato. Si en el frotis directo se ven estreptococos, debe usarse caldo de carne-sangre tamponado, sin glucosa, en lugar de caldo de extracto de carne. Si en el frotis se ven bastones gérmenes gramnegativos, debe sembrarse también una placa de agar-eosina-azul de metileno. Si se sospecha *N. gonorrhoea,* el pus debe ser transferido directamente a agar-hemoglobina-Bacto G.C. al cual se haya añadido Suplemento A Bacto; la placa se incuba en una atmósfera que contenga el 10 por ciento de anhídrido carbónico.

Líquido cefalorraquídeo. El carácter citológico del líquido y la relación de las células con las bacterias pueden determinarse con el sedimento obtenido por centrifugación.

Después de hacer el frotis, el sedimento debe resuspenderse en 1 c.c. del líquido cefalorraquídeo. La elección del medio depende del tipo de organismos y células vistos en el frotis directo. En la práctica se emplean dos tubos, en que deben sembrarse 0,2 c.c. de L.C.R. en cada uno; los tubos tienen medio inclinado de agar-sangre-infusión de carne, de pH 7,4; se pone, además, 0,2 c.c. de líquido en un tubo de caldo-sangre-macerado de carne, de pH 7,4. Los organismos del género *Brucella* y *H. influenzae* suelen ser difíciles de teñir en el frotis directo y con todos los líquidos cefalorraquídeos transparentes deben hacerse cultivos para estos microorganismos. Los cultivos para

N. meningitidis deben hacerse siempre que haya un aumento de leucocitos polinucleares neutrófilos y no se vean bacterias en la preparación.

Los líquidos cefalorraquídeos de *meningitis tuberculosas* son transparentes o ligeramente turbios. Si se sospecha tuberculosis debe dejarse el líquido en reposo, en la nevera, hasta que forme un coágulo blanco filamentoso que se va al fondo. El líquido debe ser decantado; una porción de la película se coloca en un portaobjetos y se tiñe por el método de Ziehl-Neelsen. El residuo debe concentrarse por centrifugación y el sedimento se cultiva para investigar *Myco. tuberculosis* y se inocula a cobayos.

Examen del esputo. Para obtener los mejores resultados el paciente debe lavar cuidadosamente su boca y toser directamente en una placa de Petri estéril. Deben hacerse frotis que se tiñen por el método de Gram. Si está indicado, se hacen tinciones con violeta de genciana para buscar los organismos de la simbiosis fusoespiroquética y de Ziehl-Neelsen para *Myco. tuberculosis.* Si se sospecha la presencia de un hongo, debe examinarse el esputo sin teñir, con poca iluminación.

Una partícula del esputo debe sembrarse en estría sobre una placa de agar-sangre-infusión de carne de pH 7,4. Pueden prepararse placas vertidas colocando una asa del esputo en un tubo de caldo-extracto de carne, haciendo diluciones y vertiendo en las placas como se ha descrito (pág. 904). Los cultivos para investigar *D. pneumoniae* se hacen sembrando placas de agar-sangre-glucosa infusión de carne de pH 7,8; una asa del esputo se transfiere a un tubo con medio de Avery. Para *H. influenzae*, deben sembrarse en estría placas de agar-chocolate e incubar en atmósfera con 10 por ciento de anhídrido carbónico. Los cultivos para *anaerobios* deben hacerse en medio de tioglicolato; se usa una placa de Spray para sembrar en estría. Para cultivar hongos se prepara una siembra gruesa de esputo en un medio inclinado de Sabouraud y se incuba por lo menos dos semanas a la temperatura de la habitación.

Si se desea una autovacuna, se siembra el esputo en estría sobre una placa de agar-sangre-infusión de carne, en un tubo de agar-sangre inclinado y en un tubo inclinado de medio de Sabouraud. El tubo de agar-sangre se incuba en condiciones anaerobias; el medio de Sabouraud se deja a la temperatura de la habitación.

El examen del esputo para *Myco. tuberculosis* tiene gran valor diagnóstico. Es importante que la muestra del esputo se estudie a simple vista para seleccionar las porciones gaseosas o purulentas que deberán teñirse. Con frecuencia, es conveniente pasar la partícula seleccionada del esputo al portaobjetos por medio de palillos de dientes. El esputo se extiende mejor colocando otro portaobjetos sobre la partícula de esputo y frotando vigorosamente las dos láminas juntas. Luego se tiñe el frotis por el método de Ziehl-Neelsen (pág. 884). Si no se encuentran organismos ácido-rresistentes el esputo debe concentrarse como sigue:

1. Mezclar partes iguales de esputo y NaOH al 4 por ciento; incubar durante 30 minutos a 37,5° C. El esputo adhesivo requiere mayor agitación, incubación más prolongada y mayor volumen de solución de NaOH.

2. Después de homogeneización completa, se centrifuga la mezcla a gran velocidad durante 30 minutos y se decanta el líquido que sobrenada.

3. Añadir dos o tres gotas de ClH normal al sedimento para neutralizarlo. El punto neutro puede ser determinado por adición de un indicador u observando cuando el sedimento se hace blanco u opaco.

4. Hacer un frotis delgado con el sedimento sobre un portaobjetos, secar al aire y fijar a la llama.

5. Teñir.

El esputo concentrado se usa también para sembrar medios e inyectar cobayos.

Exámenes de garganta y frotis de exudados. Es de la mayor importancia que tales muestras sean tomadas cuidadosamente y, si es posible, precisamente de la misma lesión. Un frotis debe ser teñido por el método de Gram y con violeta de genciana simple o coloración de Fontana-Tribondeau para investigar la *enfermedad fusoespiroquética* (angina de Vincent). Si esta última tinción da resultado positivo, debe comprobarse la presencia de espiroquetas por examen en campo obscuro. Todas las muestras de garganta deben sembrarse en medios de Löffler para *C. diphtheriae* y en placas vertidas (pág. 904) para estreptococos hemolíticos.

Examen de orina. El examen bacteriológico de la orina sólo tiene valor cuando las muestras se han tomado con sondas estériles y se ha tenido cuidado de limpiar los genitales externos, par-

ticularmente en la mujer. Se hace una siembra gruesa en un medio inclinado de agar-extracto de sangre, dejando que 0,1 c.c. de orina se extienda sobre su superficie. Si la muestra es de un paciente con fiebre tifoidea, la orina debe sembrarse en placas de citrato desoxicolato sódico y de agar S-S.

Si se sospecha tuberculosis debe concentrarse la orina; del concentrado se harán frotis, cultivos e inoculaciones a cobayos. Para la concentración debe usarse el sedimento de orina de 24 horas: no se requieren muestras obtenidas por cateterismo.

Bacteriología en las necropsias. En estado agónico las bacterias pueden entrar en la circulación y multiplicarse en los tejidos con velocidad asombrosa, aun después de la muerte del paciente. Los cultivos se deben hacer tan pronto como sea posible después de la muerte, de preferencia en las primeras horas.

Si los cultivos han de ser tomados del hígado, bazo u otros órganos, la superficie del órgano debe cauterizarse con un escalpelo caliente; se hace una incisión en la zona quemada. El asa debe introducirse a través de esta incisión y los medios deben ser sembrados directamente.

Cuando se toma sangre del corazón, la aguja de la jeringa debe insertar a través del músculo cardíaco previamente cauterizado.

Será mejor tomar las muestras de sangre del brazo o de la pierna que del corazón, porque la contaminación *postmortem* de la sangre del corazón tiene lugar con rapidez, probablemente a través de las grandes venas de los pulmones. No debe manipularse en los pulmones antes de proceder al cultivo de la sangre del corazón. Los exudados de las cavidades del cuerpo se pueden tomar con una jeringa o con una pipeta estériles.

El diagnóstico clínico orienta para elegir los medios. Los cultivos deben incubarse en condiciones aerobias y anaerobias y en presencia del 10 por ciento de anhídrido carbónico.

CAPITULO LXXVII

ENSAYOS IN VITRO DE SULFONAMIDAS Y ANTIBIOTICOS

Las diferentes especies de organismos, y aun las cepas dentro de las especies, muestran amplias variaciones de sensibilidad para las sulfonamidas y los antibióticos; por lo tanto, interesa medir el grado de susceptibilidad tanto antes del tratamiento como durante él.

Pruebas de sensibilidad a las sulfonamidas. La penicilina y la estreptomicina han reemplazado en gran proporción a las sulfonamidas para tratar la mayor parte de las enfermedades infecciosas. Ocasionalmente, los organismos se hacen "resistentes a los antibióticos" y debe recurrirse a la terapéutica con alguna sulfonamida. La combinación de la penicilina y una sulfonamida puede tener mayor efecto bacteriostático *in vitro* que penicilina o la sulfonamida aislada a la misma concentración (Hobby y Dawson, 1946; Klein y Kalter, 1945; Massell y col., 1946).

A veces es necesario hacer pruebas de sensibilidad a las sulfonamidas. Se han propuesto diversos métodos; vamos a indicar el que nos ha dado mejores resultados en el laboratorio. Para revisiones completas de este asunto deben consultarse los libros de Long y Bliss (1939) y de Spink (1941).

Se hacen soluciones al 0,1 por ciento de sulfanilamida y de las sales sódicas de las otras sulfonamidas en caldo de carne con pH tamponado a 7,4, que se esterilizan pasándolas a través de filtros de Seitz. Después de la filtración debe comprobarse, por determinación química, la concentración de cada droga (100 mg por ciento). De esta solución se separan 2, 1,5, 1,0 y 0,5 c.c. que se ponen en sendos tubos, a los cuales se añade suficiente cantidad de caldo para hacer un volumen total de 9,9 c.c. en cada tubo. Las concentraciones finales de la droga son, respectivamente, 20, 15, 10 y 5 mg por c.c. También se dispone un tubo testigo que contenga 9,9 c.c. de caldo.

A cada tubo se añade 0,1 c.c. de una suspensión de gérmenes de cultivo en caldo de 24 horas (aproximadamente 1 000 organismos por c.c.) y las lecturas se efectúan con el fotronreflectómetro (Libby, 1938) después de incubación de 24 horas. De los tubos que no presentan desarrollo se pasa 0,1 c.c. a tubos que contienen 10 c.c. de agar fundido y enfriado a los cuales se le ha añadido 1 c.c. de sangre estéril y se vierten en placas para determinar si murieron o no los organismos.

Determinación de sulfonamídicos en sangre y orina. El método colorimétrico de Bratton y Marshall (1939) se basa en determinar el color rojo purpúreo que se forma por unión de la sulfanilamida diazotada y el dihidrocloruro de N- (1-naftil) etilendiamina. Este método es aplicable a todos los sulfonamídicos que poseen un grupo amino libre.

Pruebas de sensibilidad a la penicilina. Se han propuesto diversos métodos, basados en la inhibición del desarrollo bacteriano *in vitro*, para determinar la sensibilidad de los microorganismos a los antibióticos (Chain y col., 1940; Fleming, 1942; Hobby y col., 1942; Rammelkamp y Keefer, 1943; Federal Register, 1947; Tompsett y col., 1947).

Método de las diluciones seriadas en caldo. Se hacen diluciones de penicilina en caldo estéril de modo que las concentraciones finales sean de 5, 1,0, 0,5, 0,1, 0,05 y 0,001 unidades por c.c. En sendos tubos se pone 1 c.c. de solución y a cada uno se añade un asa (2 mm de diámetro) de un cultivo en caldo que contenga aproximadamente 10 000 organismos por c.c. El tubo testigo

contiene 1 c.c. de caldo estéril y una asa de los organismos. Los tubos se incuban durante 24 horas a 37,5° C.

El punto final es la concentración mínima de penicilina que inhibe completamente el desarrollo del microorganismo después de incubación de 24 horas a 37,5° C.

Método de la copa de Oxford. Un caldo de cultivo del microorganismo que se ensaya se extiende sobre la superficie de una placa de agar y ésta se deja secar durante una hora en la incubadora. Se colocan sobre el agar cilindros preparados especialmente, hechos con tubos de vidrio de corta longitud. Los cilindros se llenan con diversas diluciones de penicilina y la placa se incuba durante 12-16 horas a 37,5° C. (Abraham y col., 1941). Si el microorganismo es sensible a la penicilina habrá una zona circular rodeando al cilindro donde no se producirá desarrollo bacteriano.

Método del disco de papel. Vincent y Vincent (1944) substituyeron los cilindros por discos gruesos de papel filtro de 12.7 mm de diámetro (que pueden comprarse de Carl Schleicher y Schuell Company, Nueva York, N. Y.). El caldo de cultivo del organismo que se ensaya se puede extender sobre la superficie del agar; también es posible añadir dicho organismo al agar y verter éste en la placa. Los discos se esterilizan por calor seco y después se colocan sobre las placas sembradas (3 ó 4 por placa). Con una jeringa de tuberculina estéril y una aguja hipodérmica del Nº 27 se dejan caer exactamente 0,15 c.c. de la solución de penicilina en el centro del disco. Es importante que la solución de penicilina sea añadida al disco tan pronto como éste sea colocado sobre la placa, ya que el papel del filtro puede llegar a saturarse con la humedad absorbida del medio. Si el organismo es sensible a la penicilina habrá una amplia zona circular rodeando al disco de papel, en la cual no se observará desarrollo bacteriano.

Determinación de la penicilina en los líquidos del organismo. Todos los métodos de ensayo de la penicilina en los líquidos corporales son microbiológicos y se fundan en comparar la inhibición del desarrollo producida por la muestra con la producida por una solución conocida de penicilina. Un organismo de prueba adoptado como tipo es *Strep. hemolyticus* (cepa Mv C203).

Rammelkamp y Keefer (1943), Foster y Woodruff (1943), Rantz y Kirby (1944), Rosenblatt y colaboradores (1944), Knudsen y Randall (1945), Reid y Brewer (1946), Forgacs y colaboradores (1946), Kornegay y colaboradores (1946) y otros, han descrito diversos métodos de ensayo de la penicilina en líquidos biológicos. En nuestro laboratorio usamos la técnica de ensayo de penicilina en suero sanguíneo descrita por Tompsett y sus colaboradores (1947); el procedimiento para determinar la cantidad de penicilina en otros líquidos biológicos difiere según los casos.

Se añade 1 c.c. del suero que se va a ensayar a 3 c.c. de caldo nutritivo (queda diluído al 1-4): después de mezclar, se pasa 1 c.c. de esta mezcla a 4 c.c. de suero humano reunido de diversas sangres, diluído al 25 por ciento en caldo (1-20). Se hace una dilución al 1-6 de la segunda dilución (1-20) usando el mismo caldo-suero como diluente. En una serie de tubos se colocan 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6 y 0,8 c.c. de cada dilución; se lleva el volumen a 0,8 c.c. con caldo-suero al 25 por ciento y a cada tubo se añaden 0,2 c.c. del cultivo diluído a 2×10^{-5}. El punto final es la cantidad mínima de suero que inhibe completamente el desarrollo del organismo después de 24 horas de incubación a 37,5° C. La sensibilidad del microorganismo se calcula al mismo tiempo diluyendo la penicilina con el caldo-suero y efectuando el ensayo según se describe en el párrafo anterior.

La cantidad de penicilina contenida en el suero problema se puede determinar comparando los dos resultados.

Orina y otros líquidos biológicos. Las pruebas se hacen exactamente como para el suero, sólo que la dilución inicial se prepara con suero humano mezclado al cuarto en lugar de caldo nutritivo.

Pruebas de sensibilidad a la estreptomicina. En contraste con la penicilina, la sensibilidad de un microorganismo a la estreptomicina se modifica por la edad y fase de desarrollo del cultivo, el volumen de la siembra y la presencia en los medios de ciertas substancias estimulantes del crecimiento, como la peptona.

Ensayo por dilución en caldo. El organismo que se va a ensayar se cultiva durante 16-18 horas en caldo-macerado de carne con pH tamponado a 7,8; entonces se pasa a otro tubo de caldo

y se incuba durante seis horas. Este subcultivo de seis horas se diluye con caldo hasta una densidad equivalente al patrón Nº 1 de SO_4Ba de MacFarland.

Se prepara una solución de estreptomicina y se diluye con caldo hasta concentración de 100 μg por c.c.; se añade a una serie de tubos en cantidades de 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,1, 0,15 y 0,2 c.c. El volumen de cada tubo se completa a 0,5 c.c. con caldo y se añade 0,5 c.c. de una dilución 10^{-3} del cultivo tipo. La concentración final de la estreptomicina es de 1,0 a 20 μg por c.c. El punto final es la cantidad mínima de estreptomicina que inhibe completamente el desarrollo del microorganismo después de 72 horas de incubación.

Ensayo por dilución en agar. El organismo que se va a ensayar se cultiva en un medio de Levinthal modificado (Alexander y Leidy, 1947) durante seis horas. Una asa de 2 mm de este cultivo se siembra en estría sobre la superficie de placas de agar de Levinthal modificado que contiene 1, 3, 5, 10 y 25 μg de estreptomicina por c.c., respectivamente. Si las placas se dividen en secciones se pueden ensayar para la sensibilidad por lo menos ocho cepas diferentes al mismo tiempo. La menor concentración de estreptomicina que inhibe completamente el desarrollo después de una incubación de 48 horas a 37,5° C. se define como CEM (concentración eficaz mínima).

El método del disco de papel descrito por Vincent y Vincent (1944) para las pruebas de sensibilidad a la penicilina también puede usarse para la estreptomicina. Se usan diluciones de estreptomicina que contengan de 1 a 25 μg por c.c.

Determinación de la estreptomicina en los líquidos orgánicos. Cualquier método usado para ensayar la penicilina se puede aplicar a la estreptomicina. El organismo de prueba puede ser *K. pneumoniae* (Donovick y col., 1945), *B. circulans* (Price y col., 1946), *Staph. aureus* (Stebbins y Robinson, 1945) o *B. subtilis*, cepa ATCC Nº 6633 (Federal Register, 1947). Los límites de las diluciones suelen hallarse entre 1 a 25 μg por c.c.

BIBLIOGRAFIA

Abraham, E. P. *Lancet*, 1941, 2:762.
Alexander, H. E., and Leidy, G. *J. Exper. M.*, 1947, 35:607.
Bratton, A. C., and Marshall, E. K., Jr. *J. Biol. Chem.*, 1939, 128:537.
Chain, E.; Florey, H. W., Gardner, A. D., Jennings, M. A., Orr-Ewing, J., Sanders, A. G., and Heatley, N. G. *Lancet*, 1940, 2:226.
Donovick, R., Hamre, D., Kavanagh, F., and Rake, G. *J. Bacteriol.*, 1945, 50:623.
Fleming, A. *Lancet*, 1942, 1:732.
Forgacs, J., Kornegay, G. B., and Henley, T. F. *J. Lab. & Clin. Med.*, 1946, 31:514.
Foster, J. W., and Woodruff, H. B. *J. Bacteriol.*, 1943, 46:187.
Hobby, G. L., Meyer, K., and Chaffee, E. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1942, 50:277.
——— and Dawson, M. H. *J. Bacteriol.*, 1946, 51:447.
Klein, M., and Kalter, S. S. *J. Bacteriol.*, 1946, 51:95.
Knudsen, L. F., and Randall, W. A. *J. Bacteriol.*, 1945, 50:187.
Kornegay, G. B., and Forgacs, J., and Henley, T. F. *J. Lab. & Clin. Med.*, 1946, 30:523.
Lenert, T. F., and Hobby, G. L. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1947, 65:235.
Libby, R. L. *J. Immunol.*, 1938, 34:71.
Long, P. H., and Bliss, E. A. *The Clinical and Experimental Use of Sulfonamide, Sulfapyridine, and Allied Compounds.* The Macmillan Co., New York, N. Y., 1939.
Massell, B. F., Meyeserian, M., and Jones, T. D. *J. Bacteriol.*, 1946, 52:33.
Price, C. W., Nielson, J. K., and Welch, H. *Science*, 1946, 103:56.
Rammelkamp, C. H., and Keefer, C. S. *J. Clin. Invest.*, 1943, 22:425.
Rantz, L. A., and Kirby, W. M. M. *J. Clin. Invest.*, 1944, 23:789.
Reid, R. D., and Brewer, J. H. *J. Bacteriol.*, 1946, 52:251.
Rosenblatt, P., Alture-Werber, E., Kashdan, F., and Loewe, L. *J. Bacteriol.*, 1944, 48:599.
Spink, W. W. *Sulfanilamide and Related Compounds in General Practice.* The Year Book Publishers, Inc., Chicago, 1941.
Stebbins, R. B., and Robinson, H. J. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1945, 59:255.
Tompsett, R., Shultz, S., and McDermott, W. *J. Bacteriol.*, 1947, 53:581.
Vincent, J. G., and Vincent, H. W. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1944, 55:162.
Federal Register, 1947, 12:2231.

APENDICE

POR EL DR. ANTONIO CAPELLA BUSTOS

NUEVOS ANTIBIOTICOS

Tirotricina. Es un antibiótico bruto obtenido por extracción alcohólica del *Bacillus brevis*. Actúa *in vitro* sobre la mayor parte de las bacterias grampositivas y gramnegativas, ocasionando una rápida lisis bacteriana. En presencia de los tejidos pierde la mayor parte de su actividad antibacteriana; por esta razón y por su toxicidad, su uso clínico es muy limitado.

Gramicidina. Se obtiene de la tirotricina. La gramicidina es ineficaz contra los bacilos gramnegativos y moderadamente activa contra las bacterias grampositivas. No tiene acción contra las bacterias ácidorresistentes. Actúa inhibiendo reacciones metabólicas específicas de las bacterias. Las cefalinas neutralizan su actividad antibacteriana. Según Dubos y Hotchkiss, es ineficaz contra los bacilos gramnegativos porque éstos, en su mayor parte, liberan fosfolípidos. Produce hemólisis intensa; en consecuencia, no se puede usar por vía intravenosa.

Cloromicetina (cloroamfenicol). El hongo productor es el *Streptomyces venezuelae*. Aislado en 1947, ha sido estudiado por Burckholder y por Ehrlich y Gottlieb. Crece en cultivos sumergidos aireados y produce hasta 85 mg de cloromicetina por litro de medio. Es un compuesto neutro poco soluble en agua, de fórmula $C_{11}H_{12}O_5N_2Cl_2$. Es igualmente eficaz por vía bucal y parenteral, pero como las inyecciones son irritantes, se administra sólo por ingestión.

Su acción se ejerce contra: infecciones entéricas (tifoidea y otras infecciones por salmonelas), infecciones urinarias por colibacilo, *Aerobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, klebsielas y Proteus brucelosis, rickettsiosis (tifo epidémico y endémico, fiebre manchada de las Montañas Rocosas), neumonía atípica, psitacosis, linfogranuloma venéreo y sífilis, fiebre recurrente por *Borrelia recurrentis*, y contra el *Hemophilus pertussis;* infecciones experimentales por el vibrión del cólera; encefalitis japonesa. También actúa contra el *Staphylococcus aureus*, *B. subtilis* y *Sh. paradysenteriae*. Su acción es menos intensa contra el *M. tuberculosis*.

Se absorbe bien en el intestino; se eleva rápidamente al nivel sanguíneo, pero se elimina asimismo con rapidez. Los síntomas de intolerancia no son importantes; consisten en náuseas, vómitos y diarrea. Para los primeros se aconseja administrar algún antiácido con cada toma.

La dosis inicial debe ser de 60 mg por kilogramo de peso corporal, dividida en tres tomas, que se administran por la boca con intervalos de una hora. La dosis de mantenimiento puede oscilar entre 30 y 120 mg por kilogramo de peso, con un promedio de 60 mg, según la gravedad de la infección, con intervalos de cuatro horas,

hasta dos días después de quedar afebril el enfermo. En la fiebre tifoidea y en las paratíficas debe seguirse administrando el medicamento, a media dosis, durante unos cinco días más para evitar recaídas que, de otra manera, son frecuentes al cabo de unos diez días de iniciarse el período afebril. Estas recidivas ceden bien con una nueva serie del tratamiento. Otro tanto puede decirse de las enfermedades producidas por virus sensibles a la cloromicetina. Las rickettsiosis muestran menor tendencia a recidivar con la suspensión precoz de la droga.

Aureomicina. El hongo productor es *Streptomyces aureofaciens* y fué obtenida por Duggar en 1948. Debe su nombre al color amarillo del antibiótico y del hongo productor. El polvo seco conserva su potencia durante meses; en solución acuosa se conserva a la temperatura ambiente siempre que el pH del medio no sea superior a 4,5. Administrado por la boca, se absorbe rápidamente; su eliminación, también rápida, obliga a administrar dosis repetidas. Como pasa la barrera hematoencefálica, alcanza concentraciones terapéuticas en el sistema nervioso central. Administrada por vía venosa, ha producido anemia y hemoglobinuria ligeras. Por vía digestiva, náuseas, vómitos, diarrea y excoriación del ano, molestias que se mitigan con la administración simultánea de hidróxido de aluminio. También se han observado alteraciones psíquicas que van desde la euforia hasta la psicosis.

La dosis inicial se calcula entre 10 y 50 mg por kilogramo de peso corporal, dividida en tres tomas, que se administran con intervalos de una hora. La dosis de mantenimiento oscila entre 25 y 50 mg por kilogramo de peso como total diario, dividido en tomas con intervalos de cuatro horas.

Su acción se ejerce contra diversos organismos gramnegativos del grupo salmonela y tíficos, *Aerobacter aerogenes*, *E. coli*, *Streptococcus faecalis* (grupo D), *Hemophilus influenzae*, *H. ducreyi*, *Klebsiella pneumoniae*, brucelas, los virus del grupo psitacosis-linfogranuloma, rickettsias (fiebre manchada de las Montañas Rocosas, tifo, fiebre y tifo vesicular), *Treponema pallidum*, *Spirillum minus* (fiebre por la mordedura de rata), estafilococos, estreptococos, neumococos, meningococos, endocarditis bacteriana subaguda. También actúa contra el *Entamoeba histolytica*.

Terramicina. Antibiótico obtenido en forma cristalizada por Finlay y colaboradores, de caldos de cultivos de *Streptomyces rimosus*.

Ejerce su acción contra organismos gramnegativos del grupo entérico, aerobios esporulados, cocos grampositivos, rickettsias, virus del grupo psitacosis-linfogranuloma y virus A de la influenza.

Se administra por vía bucal en tomas fraccionadas hasta un total de 2 a 3 g diarios. Su toxicidad es baja.

Bacitracina. Aislada por Moloney y colaboradores, en 1945, del *Bacillus subtilis*. Su acción principal se ejerce contra organismos grampositivos y contra espiroquetas, por lo que es un elemento valioso cuando la penicilina y las sulfamidas fracasan. Tiene acción contra gérmenes entéricos y posiblemente contra la *Entamoeba histolytica*.

Otros antibióticos obtenidos del bacilo subtilis son: la *subtilina*, eficaz contra algunos organismos grampositivos, bacilo de la tuberculosis y diversos actinomicetos patógenos; la *subtenolina*, contra estreptococos, estafilococos, bacilos tíficos y coli, salmonelas y pasteurelas; la *bacilomicina*, eficaz como fungicida.

Polimixina. Aislada por Stanley y colaboradores, en 1947, de un bacilo del suelo, *Bacillus polymyxa*. Es activo contra gérmenes gramnegativos, pero no contra neisserias ni *Proteus*. Tiene acción tóxica sobre el riñón.

Estreptotricina. Producida por el *Streptomyces lavendulae*. Es un antibiótico muy activo contra bacterias grampositivas y gramnegativas y hongos patógenos.

Su actividad disminuye *in vivo;* es muy tóxica, y por el momento no se recomienda su uso terapéutico.

Día a día aumenta la lista de los antibióticos que van ampliando la brecha abierta en las líneas de las enfermedades infecciosas. Si bien es cierto que el camino andado es mucho, queda aún bastante por recorrer, tanto más cuanto que parece registrarse un aumento en las enfermedades producidas por virus; muchas de ellas son atacables por distintos antibióticos, pero hay otras de gran importancia, como la poliomielitis, para las cuales no se ha encontrado todavía el antibiótico eficaz.

INDICE ALFABETICO

A

B

CH

F

G

I

P

S

U

ESTA OBRA HA SIDO EDITADA POR LA UNIÓN TIPOGRÁFICA EDITORIAL HISPANO AMERICANA, DE MÉXICO, D. F., AVENIDA CUAUHTÉMOC, 238-F. FUÉ IMPRESA EN LOS TALLERES DE "LA CARPETA, S. A.", CALLE DE BOLÍVAR, 151, MÉXICO, D. F., Y LA IMPRESIÓN SE TERMINÓ EL DÍA 2 DE ENERO DE 1951, EN TIRADA DE 3 000 EJEMPLARES